MEDEDEELINGEN VAN DE LANDBOUW-HOOGESCHOOL TE WAGENINGEN (NEDERLAND)
ONDER REDACTIE VAN EEN COMMISSIE
UIT DEN SENAAT
SECRETARIS PROF. DR. G. GRIJNS

DEEL 30
VERHANDELING 1

ONDERZOEKINGEN

OVER

COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM (SACC. ET MAGN.) BRI. ET CAV. EN GLOEOSPORIUM FRUCTIGENUM BERK. FORMA HOLLANDICA NOVA FORMA

DOOR

H. R. A. MULLER

H. VEENMAN & ZONEN — WAGENINGEN.

GEDRUKT TER ALGEMEENE LANDSDRUKKERIJ

INHOUD.

Blz.

Inleiding 1

Deel I. Onderzoekingen over *Colletotrichum Lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. en Cav. 3

Hoofdstuk I. Biologische rassen van *Colletotrichum Lindemuthianum*. 3

§ 1. Literatuur over het voorkomen van biologische rassen . . 3

§ 2. Onderzoek over het voorkomen van rassen van de zwam in Nederland 4

a. Materiaal 4

b. Werkwijze. 5

c. Infectieproeven en bespreking der resultaten 8

d. Verschillen in de wijze van aantasting door de verschillende stammen. 12

§ 3. Morphologie-physiologie der biologische rassen 13

a. Literatuur 13

b. Eigen onderzoek 14

1. Materiaal en werkwijze. 14

2. Resultaten en bespreking hiervan 14

Appendix 17

Hoofdstuk II. Overwintering van *Colletotrichum Lindemuthianum* . 18

§ 1. Literatuur 18

§ 2. Eigen onderzoek 20

Hoofdstuk III. Perithecium-vorming 24

§ 1. Literatuur 24

§ 2. Eigen onderzoek 28

Deel II. Onderzoekingen over een *Gloeosporium spec.* geïsoleerd van *Phaseolus multiflorus Wild* 32

§ 1. Beschrijving van de zwam 32

§ 2. Invloed van de temperatuur op den groei 33

§ 3. Infectieproeven op kiemplanten van *Phaseolus vulgaris* L. . 34

§ 4. Isolaties uit met cultuur *K* geïnfecteerde planten van *Phaseolus vulgaris* 36

§ 5. Infectieproeven op appels en tomaten 44

§ 6. Verdere infectieproeven op *Phaseolus vulgaris* L . . . 57

§ 7. Nomenclatuur van stam *K* 62

§ 8. Beschouwingen over de varibiliteit van stam *K*. . . . 66

Summary in English 73

Lijst van geciteerde literatuur 90

Platen (plates).

INLEIDING.

De onderzoekingen van BARRUS (1911, 1915, 1918) over het voorkomen van biologische rassen van *Colletotrichum Lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. in Noord-Amerika gaven aanleiding de vraag onder de oogen te zien of zoodanige rassen ook in Europa en speciaal in Nederland voorkwamen.

Dit is een vraag, welke voor het kweeken van tegen anthracnose resistente boonenvariëteiten van groot belang is. (MC. ROSTIE 1919, 1921 *a* en *b*, REDDICK 1922, BURKHOLDER 1923). Wanneer men de biologische rassen van de zwam kent, kan men meer doelbewust kruisingen gaan uitvoeren tusschen voor een of meer biologische rassen onvatbare boonenvariëteiten.

Bij ons onderzoek is geen poging gedaan om alle in Nederland voorkomende rassen van *Colletotrichum Lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. te verzamelen, noch om de vatbaarheid van de Nederlandsche boonenvariëteiten voor die rassen na te gaan. Door gebrek aan plaatsruimte in de kassen was het niet mogelijk een onderzoek in deze richting te doen, want dit werk behoort in goed geïsoleerde infectiecellen te geschieden om vermenging van de rassen te voorkomen.

Wij hebben ons daarom bepaald tot een nader onderzoek van enkele rassen en daarbij nagegaan of behalve de verschillen in virulentie voor bepaalde boonenvariëteiten andere physiologische en ook morphologische verschillen tusschen de rassen te constateeren waren.

Verder werd nagegaan of de geïsoleerde rassen identiek waren met de door BARRUS (1911, 1918), BURKHOLDER (1923) en LEACH (1923) in Amerika gevonden rassen van de zwam.

Daar niet met voldoende zekerheid bekend was of *Colletotrichum Lindemuthianum* bij afwezigheid van boonenplanten of -resten in de aarde kan overwinteren, werd nagegaan of de zwam in aarde vrij van deelen van boonenplanten kon leven en welke temperaturen beneden het vriespunt doorstaan konden worden.

Slechts een enkele maal vindt men in de literatuur gevallen van aantasting van *Phaseolus multiflorus* Wild door anthracnose vermeld.

Toen ons dan ook een door deze ziekte aangetaste peul van de pronkboon in handen kwam, was dit een aanleiding om te onderzoeken of de veroorzaker van deze aantasting een speciaal *„multiflorus"* ras van *Colletotrichum Lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. was.

De resultaten van kweekproeven met de uit de aangetaste peul geïsoleerde zwam leidden tot de veronderstelling, dat deze een vorm van *Gloeosporium fructigenum* Berk. zou zijn. De juistheid van deze veronderstelling werd door infectieproeven op *Phaseolus vulgaris,* appels en tomaten bevestigd.

Bij deze proeven werd gevonden, dat de virulentie van deze zwam in hooge mate door het substraat beïnvloed wordt en er ontstonden door het kweeken op bovengenoemde substraten een aantal zeer constante variaties van de zwam. (In dit verband willen wij er op wijzen, dat het ons ongewenscht voorkomt dergelijke vormen als „mutaties" te betitelen, daar door de asexueele voortplanting van de zwam het bewijs niet te leveren is, dat er een verandering in genotype is opgetreden.) Het was mogelijk eenerzijds stammen te verkrijgen met grooter virulentie voor *Phaseolus vulgaris* L, en geringer virulentie voor vruchten dan de oorspronkelijke stam en anderzijds stammen, waarvan de virulentie voor appels en tomaten sterk vergroot was in vergelijking met de oorspronkelijke stam. Deze groote mate van variabiliteit, welke ook bij verwante *Gloeosporiën* voorkomt, achten wij van belang om inzicht te krijgen in de specialisatie ten opzichte van de voedsterplanten. (Zie Deel II, § 8.)

Door de groote virulentie, welke de zwam bezit voor vruchten, vertoont deze veel overeenkomst met *Gloeosporium fructigenum* Berkeley. Zij is echter niet identiek met de door KRÜGER (1913) beschreven *Gloeosporium fructigenum* Berk. forma *americana* en *Gloeosporium fructigenum* Berk. forma *germanica.* Wij meenen haar daarom als een nieuwe vorm van *Gloeosporium fructigenum* Berk. te moeten beschouwen en hebben deze vorm genoemd: *forma hollandica* nov. forma.

HOOFDSTUK I.

BIOLOGISCHE RASSEN VAN COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM (SACC. ET MAGN.) BRI. ET CAV.

§ 1. LITERATUUR OVER HET VOORKOMEN VAN BIOLOGISCHE RASSEN.

BARRUS (1911) concludeert na infectieproeven met reincultures, dat er minstens 2 rassen van de zwam moeten bestaan, die verschillen in specifiek infectievermogen ten opzichte van verschillende boonenvariëteiten.

EDGERTON en MORELAND (1916) vonden bij het onderzoek van isolaties van *Colletotrichum Lindemuthianum* van verschillende herkomst 3 rassen van de zwam.

In 1918 vermeldt BARRUS de resultaten van infectieproeven op een groot aantal boonenvariëteiten met talrijke isolaties van de zwam. Uit deze resultaten besluit BARRUS, die blijkbaar het onderzoek van EDGERTON en MORELAND niet kende, dat er 2 rassen bestaan, die hij ras α en ras β noemt. Zeer overtuigend is het betoog van BARRUS niet, wanneer hij aantoont, dat er niet meer dan 2 rassen zijn. In zijn tabellen zijn meerdere gegevens te vinden, waaruit men evengoed tot het bestaan van meer dan twee rassen kan concludeeren. Op p. 600 zegt BARRUS zelf: „From table 3 one would conclude that culture K, with possibly two exceptions, is closely related to strain β, but in these latter varieties, as shown in table 4, it appears, except for three varieties to be related to strain α". Toch rekent BARRUS deze stam K tot ras β. Hij had deze stam echter met meer recht als een nieuw ras kunnen beschouwen.

Ook LEACH (1923) gaat niet met de indeeling van de stammen van BARRUS in 2 groepen accoord. Hij zegt (p. 103): „if we consider difference in parasitism a sufficient basis for distinguishing biologic forms, a difference can not justly be disregarded even if manifested on one host only. Furthermore, these forms may act differently on many other bean varieties which were not inoculated".

Maar dadelijk hierna begaat LEACH dezelfde fout, die hij BARRUS verwijt. LEACH heeft 8 biologische rassen gevonden en geeft dan met behulp van de bekende vatbaarheid van 7 boonen-

variëteiten voor deze 8 rassen een sleutel, waarmede, naar hij zegt: „an unknown biologic form may be readily identified by a few simple inoculations" (p. 10). LEACH rekent er nu niet mee, dat onder de talrijke andere boonenvariëteiten wel verschillen in vatbaarheid voor, volgens den sleutel van LEACH gelijke, rassen kunnen optreden. Dat dit inderdaad kan voorkomen, zal in het onderstaande (§ 2. *c* p. 12) aangetoond worden.

In 1923 vermeldt BURKHOLDER het bestaan van een γ ras van de zwam, zoo genoemd in onderscheiding van de door BARRUS gevonden α en β rassen. Dit γ ras bleek boonenvariëteiten aan te tasten, die zoowel voor de rassen α als β resistent waren.

In de meeste van de bovengenoemde gevallen vertoonden de verschillende rassen behalve in hun verschillen in specifiek infectie vermogen ten opzichte van boonenvariëteiten geen morfologische verschillen.

Het zijn uitsluitend Amerikaansche auteurs, welke het bestaan van biologische rassen van de zwam constateerden.

In het werk van enkele Europeesche onderzoekers komen wel eenige aanwijzingen voor, waaruit blijkt, dat waarschijnlijk ook in Europa rassen van de zwam voorkomen.

Zoo zegt FISCHER (1919), dat naar zijn opvatting de tegenstrijdige meeningen in Duitschland over de vatbaarheid van bepaalde boonenvariëteiten voor anthracnose hun verklaring kunnen vinden in het voorkomen van verschillende rassen van de zwam in de verschillende plaatsen, zoodat een boon, die in de eene streek weinig vatbaar is, in een andere streek sterk aangetast wordt.

SCHAFFNIT en BÖNING (1925) vermelden echter, dat zij bij een onderzoek met cultures van uit verschillende streken van Duitschland afkomstige aangetaste peulen geen biologische rassen hebben gevonden.

§ 2. ONDERZOEK OVER HET VOORKOMEN VAN RASSEN VAN *COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM* IN NEDERLAND.

a. MATERIAAL.

Infectieproeven zijn gedaan op een aantal van dezelfde boonenvariëteiten, die BARRUS (1918) en LEACH (1923) voor hun infectieproeven gebruikten en welke zij welwillend ter onzer

beschikking stelden. Er werd met deze Amerikaansche variëteiten gewerkt om na te kunnen gaan of de eventueel te vinden rassen van de zwam identiek zouden zijn met de in Amerika door BARRUS, BURKHOLDER en LEACH gevonden rassen. Van de door Prof. BARRUS gezonden boonen was bekend of zij al dan niet voor een of meer van de rassen α, β en γ vatbaar waren. Dr. LEACH zond de 7 in zijn „analytical key to biologic forms of *Colletotrichum Lindemuthianum*" genoemde soorten.

Al deze boonen behoorden tot de soort *Phaseolus vulgaris* L.

Van de voor de infectieproeven gebruikte reincultures van de zwam waren er twee geïsoleerd van aangetaste peulen van bruine boon afkomstig uit 's Heer Arendskerke (Zeeland). Deze cultures zijn in het onderstaande aangeduid als cultures *Z I* en *Z II*.

Cultuur *Z I* werd uit een boon geïsoleerd, waarvan in de avervuli in de aangetaste plekken abnormaal veel setae voorkwamen, waardoor deze inplaats van de normale grijsroode kleur een zwarte kleur vertoonden. Deze afwijking is echter later slechts zelden weer gevonden bij avervuli op kunstmatig geïnfecteerde boonenplanten of -peulen.

Verder werden infectieproeven verricht met een cultuur, geïsoleerd van een peul van de „Dubbele Hollandsche Princesseboon", afkomstig uit 's Gravenzande in het Westland. Deze cultuur is in het vervolg met de letter *W* aangeduid.

Een vierde cultuur werd geïsoleerd van een peul van de snijboonvariëteit „Noordster", afkomstig uit Enkhuizen. Deze cultuur is in het onderstaande met de letter *E* aangeduid.

b. WERKWIJZE.

De als uitgangsmateriaal voor de infectieproeven gebruikte cultures werden ieder eenige malen achtereen uit één spore gekweekt. Deze één-spore-cultures werden verkregen door een druppel eener verdunde sporensuspensie op een zeer dunne laag boonengelatine [1]) in Petrischalen uit te zaaien.

Na 24 uur werd met behulp van het microscoop apart liggende kiemende sporen opgezocht en deze werden overgeënt. Wanneer

---

[1]) De boonengelatine werd volgens het onderstaande voorschrift bereid: 100 Gr. boonen 1 uur in 1 L. warm water weeken, vervolgens de massa 1 uur koken. Filtreeren. Filtraat tot 1 L. aanvullen en 10 % gelatine toevoegen. Vervolgens $\frac{1}{2}$ uur bij 120° C. steriliseeren. Na 24 uur nogmaals $\frac{1}{2}$ uur bij 120° C. steriliseeren.

de op deze wijze verkregen cultuur sporen vormde, werden op dezelfde wijze, weer één-spore-cultures gemaakt en daarna werd het geheele proces nog eens herhaald.

Deze werkwijze is voldoende betrouwbaar, wanneer men de sporensuspensie zoodanig verdunt, dat men per druppel sporensuspensie 10 à 15 conidiën op de voedingsbodem brengt. Zeer zelden blijven dan de sporen aan elkaar kleven en bovendien kan men met behulp van het microscoop controleeren of men werkelijk één spore overent.

Bij de infectie werd als volgt te werk gegaan.

Van de één-spore-cultures werd overgeënt op door koken gesteriliseerde stengels van Vicia faba in cultuurbuizen. Op dit substraat worden in korten tijd overvloedig acervuli en pseudopycniden gevormd. Sporensuspensies werden bereid door de geënte stengels van *Vicia faba* in water te brengen, ze 10 minuten te laten staan om de sporen te doen losweeken en ze vervolgens met een glazen staaf te wrijven om de sporen te doen loslaten.

Ten slotte werd de vloeistof door een gazen lapje gefiltreerd om de vaste deelen van den voedingsbodem te verwijderen. De zoo verkregen sporensuspensie werd met behulp van een metalen vaporisator over de te infecteeren planten verstoven.

De infectieproeven werden verricht in de infectiecellen van de kassen van het Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek te Wageningen. De infectieproeven werden steeds gelijktijdig met de 4 genoemde stammen genomen in 4 aparte infectiecellen.

Van de te onderzoeken boonenvariëteiten werden in elk der 4 kasjes evenveel zaden afzonderlijk in potten gepoot in een gekookt mengsel van kleigrond en turfmolm. Wanneer het eerste paar bladen volledig ontwikkeld was, (ongeveer 14 dagen na het zaaien) werden de planten geïnfecteerd. De eerste dagen na de infectie werd de temperatuur der kasjes op ongeveer 18°—20° C. gehouden, daar dit volgens LAURITZEN (1919) de voor infectie meest geschikte temperatuur is. Eenige uren voor de infectie werd de grond in de bakken goed vochtig gemaakt en na de besproeiïng met de sporensuspensie werden de bakken, waarin de planten stonden afgedekt met glasplaten, waarop papier kwam te liggen.

Het afdekken der bakken met glas is noodig om de voor infectie noodige luchtvochtigheid te verkrijgen. Volgens LAURITZEN

heeft de infectie alleen plaats bij een luchtvochtigheid van 95—100 %. Het leek mij wenschelijk de planten de eerste dagen na infectie niet in het volle licht te plaatsen, daar gebleken was, dat het licht de eerste dagen na de kieming der sporen den groei van de schimmel vertraagt. Of het licht het binnendringen der zwam in de plant ook beïnvloedt, kon niet worden nagegaan.

Twee dagen na de eerste infectie werd de besproeiing met een sporensuspensie herhaald en nog twee dagen later werd het glas van de bakken afgenomen.

Tegen het trekken van conclusies bij deze proefopzet zou men als bezwaar kunnen aanvoeren, dat de planten in zeer abnormale omstandigheden geplaatst zijn geweest. Proeven van BARRUS (1921) en LEACH (1923), waarbij planten verwond werden of zeer vochtig of zeer droog gekweekt werden, hebben echter bewezen, dat dergelijke abnormale groeiomstandigheden niet in staat zijn de vatbaarheid van de planten te veranderen.[1])

Ongeveer 7 dagen na de 1ste infectie vertoonden zich de ziekteverschijnselen. Twaalf dagen na de 1ste infectie werd het resultaat genoteerd. Bij de beoordeeling werd de aantastingsraad met behulp van onderstaande puntenschaal aangeteekend:

Aantastingsgraad.	Symptomen.
10	Plant dood.
8	„ sterk aangetast, kans op herstel gering. } op de vlekken zeer veel acervuli.
6	„ vrij sterk aangetast, vrij veel acervuli.
4	„ licht aangetast, weinig acervuli.
2	„ zeer licht aangetast, geen acervuli.
0	Geen spoor van aantasting.

[1]) Dat zelfs vrij sterke verwondingen geen invloed hebben op vatbaarheidsgraad bleek toen bij een infectieproef, dadelijk na de 1ste infectie een ruit brak, waardoor 15 planten van de variëteit Red Indian Minn. 1101 en 17 planten van de variëteit Navy Minn. 1083 sterk beschadigd werden: er waren stengels en bladsteelen gebroken of geknakt en bladeren gekneusd. De meeste van deze planten bleven in leven. De beschadigde planten van de variëteit Red Indian Minn. 1101 werden in geen enkel opzicht sterker aangetast dan de niet beschadigde. En de beschadigde exemplaren van de variëteit Navy Minn. 1083, die voor het ras, waarmede geïnfecteerd was, immuun is, vertoonden ook geen sporen van aantasting.

Het geven van cijfers maakt het beter mogelijk de aantastingen door verschillende rassen van de zwam te vergelijken en een gemiddelde te bepalen dan bij het geven van qualificaties zooals sterk, vrij sterk, matig enz. het geval is. Ook is het nu mogelijk bij iedere infectieproef de middelbare fout van het gemiddelde in den aantastingsgraad te berekenen en zoodoende de variabiliteit in de vatbaarheid der variëteiten te bepalen en na te gaan of er reëele verschillen in aantasting bestaan.

c. INFECTIEPROEVEN EN BESPREKING DER RESULTATEN.

De resultaten van de infectieproeven zijn neergelegd in de tabellen 1 en 2. De eerste tabel geeft de graad van aantasting met de daarbij behoorende middelbare fout van het gemiddelde (berekend volgens JOHANNSEN, 1913) op door Prof. BARRUS gezonden boonen.

Uit tabel 1 blijkt duidelijk, dat alle vier de cultures zich ten opzichte der gebruikte boonenvariëteiten verschillend gedragen.

De cultures *Z I* en *Z II* zijn verschillend van de cultures *E* en *W* door hun gedrag tegenover b.v. de variëteiten Red Kidney, Well's Red Kidney, Yellow Eye 17-541-12-1-6 e.a. De stammen *Z I* en *Z II* verschillen onderling in hun gedrag tegenover de variëteiten Burpee White Wax, Extra Early Refugee, Kentucky Wonder e. a.

De cultures *E* en *W* verschillen onderling door hun gedrag tegenover de variëteiten: Round Pod Kidney Wax, Extra Early Refugee, Black Kentucky Wonder, Refugee Wax.

De cultures *Z I, Z II, E* en *W* gedragen zich dus verschillend bij infectie van dezelfde boonenvariëteiten. Deze cultures kunnen hierom als aparte biologische rassen van *Colletotrichum Lindemuthianum* beschouwd worden.

Thans dient te worden nagegaan of deze rassen identiek zijn met de rassen α, β en γ van BARRUS en BURKHOLDER.

In kolom 6 van tabel 1 is aangegeven de vatbaarheid der boonenvariëteiten voor de rassen α, β en γ. De kleine letters a, b en c duiden aan, dat de betreffende boonenvariëteit vatbaar is voor de rassen α, β en γ en de letters A, B en C beteekenen, dat deze variëteit onvatbaar is voor deze rassen van de zwam.

Stam *Z I* tast de variëteiten Round Pod Kidney Wax en

TABEL 1. *Resultaten der infectieproeven.*

Boonenvariëteiten van BARRUS.	Cultures van Colletotrichum Lindemuthianum.				Vatbaarheid [1] voor α, β en γ.
	Z I	*Z II*	*E*	*W*	
Round Pod Kidney Wax. . .	2,533 ± 0,578	2,421 ± 0,377	2,277 ± 0,410	0,166 ± 0,106	ab
Burpee's White Wax	5,303 ± 0,370	8,219 ± 0,479	7,200 ± 0,361	8,722 ± 0.378	ab
Extra Early Refugee	6,533 ± 0,33	3,857 ± 0,363	8,000 ± 0,335	5,801 ± 0,591	ab
Black Kentucky Wonder . .	—	1,583 ± 0,672	9,500 ± 0,272	2,455 ± 0,399	a B
Refugee Wax	4,714 ± 0,616	—	7,167 ± 1,119	2,00 ± 0,444	ab ? C
Kentucky Wonder (Burpee) .	9,737 ± 0,223	3,256 ± 0,362	—	2,437 ± 0,284	a B C
White Kidney (Plaat 1) . . .	9,538 ± 0,315	5,462 ± 0,742	0	0	Abc
White Marrow	6,5 ± 0,784	3,875 ± 0.333	10 ± 0	—	Abc
Red Kidney	9,700 ± 0,373	8,111 ± 0,599	0	0	Abc
White Imperial	2,125 ± 0,375	3,125 ± 0,011	0,083 ± 0,086	0,133 ± 0,044	A Bc
Perry Marrow.	1,067 ± 0,316	2,143 ± 0,344	0	0	A Bc
Well's Red Kidney.	4,00 ± 0,293	6,714 ± 0,500	0,095 ± 0,071	0,273 ± 0,279	A Bc
Yellow Eye 17-541-12-1-6 . .	9,167 ± 0,05	10 ± 0	0	0	A B ? C

[1]) Vatbaarheid voor de rassen α, β en γ, zooals deze door BARRUS ons bij de toezending der voor de proeven benoodigde boonenvariëteiten opgegeven werd.

Van iedere variëteit zijn met iedere cultuur van de zwam 40 planten geïnfecteerd.

Burpee's White Wax, die volgens de opgave van BARRUS voor de rassen α en β zeer vatbaar zijn, slechts licht aan. Stam *Z I* is dus niet gelijk aan α en β van BARRUS.

De variëteit Yellow Eye 17-541-12-1-6 is volgens BURKHOLDER (1923) immuun voor ras γ. Deze variëteit wordt door stam *Z I* sterk aangetast, terwijl de voor ras γ vatbare variëteiten White Imperial en Perry Marrow zeer licht worden aangetast. Hieruit blijkt, dat stam *Z I* niet gelijk is aan ras γ van BURKHOLDER.

Stam *Z II* tast de voor ras α zeer vatbare variëteit Black Kentucky Wonder bijna niet aan. De voor ras β vatbare variëteiten Round Pod Kidney Wax en Extra Early Refugee zijn eveneens resistent voor stam *Z II*. Stam *Z II* is dus niet gelijk aan de rassen α en β.

De voor ras γ onvatbare variëteit Yellow Eye 17-541-12-1-6 wordt sterk aangetast door stam *Z II*; de voor ras γ vatbare variëteiten White Marrow, White Imperial en Perry Marrow zijn voor stam *Z II* resistent.

Stam *Z II* is dus ook niet gelijk aan ras γ.

Stam *E* komt in veel opzichten overeen met ras α; stam *E* tast de voor ras α vatbare variëteiten Burpee's White Wax, Extra Early Refugee, Black Kentucky Wonder en Refugee Wax sterk aan. Alleen de voor ras α vatbare Round Pod Kidney Wax is voor stam *E* resistent. Verder wordt de voor ras α resistente variëteit White Marrow door stam *E* zeer sterk aangetast. We kunnen dus concludeeren, dat stam *E* toch niet gelijk is aan ras α van BARRUS. Thans moeten we nog nagaan of stam *E* gelijk is aan een der rassen β en γ.

De voor β of γ vatbare variëteiten White Kidney, Red Kidney, White Imperial, Perry Marrow en Well's Red Kidney zijn zeer resistent voor stam *E*. Stam *E* komt dus ook niet overeen met de rassen β en γ.

Stam *W* tast de voor de rassen α en β vatbare variëteit Round Pod Kidney Wax zoo goed als niet aan en ook voor α vatbare variëteiten Black Kentucky Wonder, Refugee Wax en Kentucky Wonder worden slechts licht aangetast. Hieruit blijkt, dat stam W niet gelijk is aan ras α. De voor de rassen β en γ vatbare variëteiten White Kidney en Red Kidney en de voor ras γ vatbare variëteiten White Imperial, Perry Marrow en Well's Red Kidney worden niet of zeer licht door stam *W* aangetast. Stam *W* is dus niet gelijk aan een der rassen β en γ.

Uit het bovenstaande blijkt, dat geen der stammen *Z I*, *Z II*, *E* en *W* overeenkomt met een der rassen α, β en γ van BARRUS en BURKHOLDER.

Ook werden infectieproeven genomen om na te gaan in hoeverre de gevonden biologische rassen overeenkwamen met de door Dr. LEACH (1923) gevonden rassen. Om dit vast te stellen werd gewerkt met door Dr. LEACH gezonden boonenvariëteiten, welke volgens zijn opgave zouden kunnen dienen voor het identificeeren van onbekende biologische rassen van de zwam. Van iedere boonensoort en met iedere stam werden 50 planten geïnfecteerd.

Tabel 2 geeft de resultaten van deze infectieproeven en tabel 3 geeft weer de „analytical key to biologic forms of *Colletotrichum Lindemuthianum*" van LEACH.

TABEL 2. *Resultaat van de infectieproeven met de stammen:*

Boonnevariëteiten van LEACH.	*Z I*	*Z II*	*E*	*W*
Brown Swedish, Minn. 152.	9,445 ± 0,151	9,00 ± 0,152	5,644 ± 0,264	2,508 ± 0,188
Navy, Minn. 69	1,348 ± 0,133	1,00 ± 0,064	9,857 ± 0,144	9,06 ± 0,048
Red Kidney, Minn. 156 . .	9,614 ± 0,160	9,675 ± 0,184	0	0
Red Indian, Minn. 1101 . .	2,594 ± 0,256	2,489 ± 0.158	9,848 ± 0,187	9,344 ± 0,124
Navy, Minn. 1083	0,104 ± 0,049	0	8,907 ± 0,261	7,147 ± 0,390
Ruby Horticultural Bush, Minn. 98	9,766 ± 0,132	9,070 ± 0,129	0	0
Improved Yellow Eye, Minn. 1096	9,936 ± 0,141	8,364 ± 0,182	0	0

TABEL 3.

Analytical Key to Biologic Forms of Colletotrichum Lindemuthianum.

Brown Swedish, Minn. 132. resistant . . . . . V[1])
„ „ „ „ susceptible.
Navy, Minn. 69, resistant VIII
„ „ „ susceptible.
Red Kidney, Minn. 156. resistant IV
„ „ „ „ susceptible.
Red Indian, Minn. 1101 resistant.
Navy, Minn. 1083 resistant. II
„ „ „ susceptible.
Ruby Horticultural Bush, Minn. 98 resistant.
Improved Yellow Eye, Minn. 1906 resistant VII
Improved Yellow Eye, Minn. 1096 susceptible VI
Ruby Horticultural Bush, Minn. 98 susceptible III
Red Indian, Minn. 1101. susceptible I

[1]) De cijfers in deze kolom geven de door Dr. LEACH gevonden rassen van *Coll. Lindem.* aan.

Uit kolom 2 en 3 van tabel 2 blijkt, dat de stammen *Z I* en *Z II* op de gebruikte boonenvariëteiten geheel gelijk werken en volgens tabel 3 zouden ze beiden identiek met ras VIII zijn.

Uit de resultaten van de vroegere infectieproeven is echter wel voldoende gebleken, dat de stammen *Z I* en *Z II* niet aan elkaar gelijk zijn. Hieruit blijkt, dat het schema van LEACH, waarin het al of niet vatbaar zijn van 7 boonensoorten dient om vast te stellen of men met bekende of met nieuwe biologische rassen te doen heeft, hiervoor niet toereikend is. (Vgl. p. 4.)

De stammen *E* en *W* geven alleen een verschil in aantasting van de variëteit Brown Swedish, Minn 132, op de andere soorten geven ze een ongeveer gelijke mate van aantasting.

Volgens tabel 2 en 3 is stam *E* identiek met ras IV en stam *W* met ras V, doch het is niet zeker, dat dit werkelijk het geval is, want ook hiervan kan gezegd worden, hetgeen LEACH als bezwaar tegen conclusies van BARRUS (1918) aanvoert: „these forms may act differently on many other bean varieties which were not inoculated." (LEACH 1923, p. 9.)

LEACH vermeldt, dat hij geen immune soorten gevonden heeft en dat de meest resistente planten nog kleine vlekjes vertoonden. Bij onze proeven werden op de variëteiten Red Kidney en Improved Yellow Eye na infectie met de stammen *E* en *W* in het geheel geen sporen van aantasting gevonden. Ook dit wijst er op, dat de stammen *E* en *W* niet identiek zijn met de rassen IV en V.

d. VERSCHILLEN IN WIJZE VAN AANTASTING DOOR DE VERSCHILLENDE STAMMEN.

In enkele gevallen werd waargenomen, dat behalve verschillen in de mate van vatbaarheid der boonenvariëteiten voor de rassen der zwam ook verschillen bestaan in de wijze, waarop de aantasting plaats heeft.

De stammen *Z I* en *Z II* doen alle planten van de variëteit Yellow Eye 17-541-12-1-6 afsterven.

Hoewel de planten op het tijdstip van infectie even oud, geheel gelijk ontwikkeld en gelijk behandeld waren, werd bij de planten geïnfecteerd met stam *Z II* zoowel het hypocotyle als het epicolyte deel der stengel aangetast, terwijl bij de infectie met stam *Z I* alleen aantasting van het epicotyle stengeldeel en van den wortelhals optrad (zie plaat 3).

Een zeer eigenaardig verschil in aantastingswijze door de 4 rassen trad op bij de variëteit Michigan Robust Pea Bean.

De planten waren op denzelfden dag gezaaid, gelijk behandeld en gelijktijdig geïnfecteerd.

De stam *Z II* gaf zeer geringe aantasting en dan nog alleen op de jongste stengeldeelen, stam *W* deed de planten boven de kiembladen afsterven, stam *Z I* tastte de bladstelen en den stengel boven het eerste paar bladen zoodanig aan, dat de bladen niet afstierven, doch de groei vrijwel geheel tot stilstand kwam. In 3 weken na de infectie waren de planten ongeveer 2 c.M. gegroeid; de bladen waren wat krom getrokken en het aangetaste stengeldeel, de bladstelen en de bladnerven waren bruin gekleurd. De aangetaste deelen waren niet ingezonken, doch bleven turgescent en er waren geen scherp begrensde infectieplaatsen waar te nemen. Ook werden geen acervuli gevormd. Stam *E* deed de planten geheel afsterven. (Plaat 2 en 3.)

§ 3. MORPHOLOGIE-PHYSIOLOGIE DER BIOLOGISCHE RASSEN.

a. LITERATUUR.

EDGERTON (1915) vermeldt, dat het optimum voor groei van *Colletotrichum Lindemuthianum* ligt bij 22° tot 23° C. en het maximum voor groei tusschen 30° en 31° C.

EDGERTON onderzocht de 8 cultures van de zwam. Uit de in zijn publicatie gegeven grafieken blijkt, dat niet alle isolaties dezelfde groeicurve vertoonen, doch hij geeft niet aan of er verband bestaat tusschen de pathogeniteit der cultures voor verschillende boonensoorten en de verschillen in groeicurve.

BARRUS (1921) vermeldt, dat de minimum temperatuur voor groei tusschen 0° en 4° C. ligt, de optimum temperatuur 22° en de maximum temperatuur 34° C. bedraagt. Hoe de door BARRUS gevonden biologische rassen door de verschillende temperaturen beïnvloed worden, valt uit de door hem gegeven grafiek niet af te leiden.

LEACH (1923) nam proeven over den invloed van de temperatuur op den groei van 3 biologische rassen. De verschillen in groeisnelheid en kolonievorm bij verschillende temperaturen van deze rassen waren gering en vervolgens LEACH zijn ze van geen waarde. Er dient echter hier vermeld te worden, dat uit zijn grafiek figuur 2 blijkt, dat voor de rassen V en VI de optimum temperatuur ongeveer 18,5° C. bedraagt en voor ras VII 23° C.

Uit een andere proef van LEACH blijkt, dat voor *Colletotrichum* de maximum temperatuur 32,5° C. bedraagt en de optimum temperatuur 22,5°. Het gelukte LEACH verschil te vinden in de wijze waarop 2 rassen op toevoeging van bepaalde suikers aan de voedingsoplossing, waarin de rassen gekweekt werden, reageerden.

SCHAFFNIT en BÖNING (1925) vermelden, dat de optimum temperatuur tusschen 18° en 22° C. ligt en de maximum temperatuur tusschen 33 en 35° C.

b. EIGEN ONDERZOEK.

1. *Materiaal en werkwijze.*

De proeven werden genomen met cultures van de stammen *Z I, Z II, E* en *W*.

De te onderzoeken stammen werden gekweekt in Petrischalen op kersenagar. Er werd zorg voor gedragen, dat de laag agar in alle schalen even dik was. De schalen werden geënt met stukjes mycelium en een weinig van den voedingsbodem (kersenagar), groot 4 × 4 mm., afkomstig uit jonge cultures der verschillende stammen.

Na het enten werden de schalen eerst 2 dagen in een thermostaat bij een temperatuur van 20° C. en vervolgens 1 dag bij 5° C. geplaatst. Dit plaatsen der cultures bij + 5° C. werd gedaan om den ingetreden groei tot stilstand te brengen. Daarna werden van iedere stam telkens 3 schalen geplaatst in thermostaten van 5°, 10°, 15°, 20°, 25°, 28°, 30° en 35° C. Weer 1 dag later werd de diameter der cultures gemeten. Vervolgens werden de cultures na 2 en 4 dagen gemeten. Uit de op deze wijze verkregen gegevens werd de dagelijksche toename van de diameter der cultures berekend.

2. *Resultaten en bespreking hiervan.*

De resultaten der in het bovenstaande beschreven proef zijn samengevat in tabel 4.

De minimum-, optimum- en maximum-temperatuur voor groei blijkt dus geheel over een te komen met die, welke EDGERTON, BARRUS, LEACH en SCHAFFNIT en BÖNING vonden. Bij alle stammen ligt de maximum temperatuur voor groei in de buurt van 30° C. Bij verhooging van de temperatuur van 28° C., waarbij alle nog meer of minder goed groeien, op 30° C. komt de groei geheel tot stilstand. Bij stam *Z I* ligt de lethale temperatuur zeer

TABEL 4. *Gemiddelde dagelijksche groei in m.M.*

Stam.	Temperatuur:							
	5°	10°	15°	20°	25°	28°	30°	35° C.
Z I	1,0	0,9	4,1	**4,7**	4,0	2,9	0	0
Z II	0,6	2,0	4,2	**5,3**	4,9	4,4	0,1	0
E	0,2	1,2	3,1	4,2	**5,0**	4,4	0,5	0
W	0,2	1,2	3,3	4,0	**5,4**	4,3	0,6	0

dicht bij de maximum temperatuur voor groei. Worden de cultures, welke bij 30° C. geplaatst geweest zijn, weer op lagere temperatuur gebracht, dan heeft geen groei meer plaats.

Voor de andere stammen ligt de lethale temperatuur tusschen 30° en 35° C.

Uit tabel 4 blijkt, dat bij de temperaturen 5° tot en met 20° de stammen *E* en *W* langzamer groeien dan de stammen *Z I* en *Z II*. Het groei-optimum voor de stammen *Z I* en *Z II* ligt in de buurt van 20° en dat van de stammen *E* en *W* in de buurt van 25°. Ook wordt door verhooging van de temperatuur van 28° op 30° bij de rassen *Z I* en *Z II* de groei meer beïnvloed dan van de rassen *E* en *W*. We hebben hier dus overeenkomst met hetgeen uit de proeven van LEACH bleek; de rassen verschillen behalve in hun gedrag ten opzichte van verschillende boonensoorten ook in de wijze, waarop hun groei door de temperatuur beïnvloed wordt.

Bij de resultaten van infectie proeven op verschillende boonensoorten bleek, dat de verschillen in infectievermogen tusschen de stammen *Z I* en *Z II* onderling over het algemeen veel kleiner zijn dan hun verschillen met de stammen *E* en *W*. (Zie tabel 1 p. 9 en 2 p. 11.) Ook de verschillen in infectievermogen tusschen de stammen *E* en *W* onderling zijn veel geringer dan hun verschillen met *Z I* of *Z II*. (Zie tabel 1 p. 9 en 2 p. 11.) Een dergelijke overeenkomst tusschen de stammen *Z I* en *Z II* onderling en tusschen de stammen *E* en *W* onderling vinden wij terug in de wijze, waarop de groei der stammen door de temperatuur beïnvloed wordt: *Z I* en *Z II* hebben hun optimale groei bij dezelfde temperatuur en de stammen *E* en *W* ook.

We kunnen dus concludeeren, dat de stammen *Z I* en *Z II* betrekkelijk na aan elkaar verwant zijn en de stammen *E* en *W* onderling ook. Er zijn nog meer feiten, die de juistheid dezer veronderstelling staven. De stammen *E* en *W* vormen op kersenagar niet veel en los lucht mycelium. Jonge cultures van de stammen

E en *W* zijn niet wezenlijk van elkaar verschillend. De stammen *Z I* en *Z II* daarentegen vormen veel meer lucht mycelium, dat een compacte, wollige laag vormt. Jonge cultures van de stammen *Z I* en *Z II* zijn ook niet van elkaar te onderscheiden. (Zie plaat 7 en 8.) Een cultuur van de stammen *E* of *W* is daarentegen steeds van een cultuur van de stammen *Z I* of *Z II* te onderkennen (zie plaat 4 en 5). Uit de groeiwijze op kersenagar blijkt dus, dat de stammen *Z I* en *Z II* nauw verwant zijn en de stammen *E* en *W* ook.

Een overeenkomstig verschil in groeiwijze wordt gevonden bij het kweeken der stammen op boonenagar (zie plaat 8). Stam *E* en *W* zijn ook dan niet van elkaar te onderscheiden en de stammen *Z I* en *Z II* onderling ook niet, doch het verschil tusschen de cultures van de eene groep en die van de andere groep is zeer groot. Er is verschil in hoeveelheid luchtmycelium en in kleur der kolonies. De cultures van de stammen *E* en *W* worden spoedig zwart door verkleuring der myceliumdraden en die van de stammen *Z I* en *Z II* blijven wit.

LEACH (1923) vermeldt, dat bij zijn proeven de verschillen in groeiwijze van hetzelfde ras bij verschillende temperaturen zoo groot waren, dat het niet mogelijk was de groeiwijze der rassen te gebruiken om ze van elkaar te onderscheiden. De platen 4 en 5 doen zien, dat bij onze proeven het verschil in groeiwijze tusschen de rassen *E* en *Z II* bij ieder der verschillende temperaturen blijft bestaan.

Uit deze proeven mag geconcludeerd worden, dat de stammen *Z I* en *Z II* nauwer verwant zijn met elkaar dan met de stammen *E* of *W* en omgekeerd, dat de stammen *E* en *W* met elkaar nauwer verwant zijn dan met de stammen *Z I* of *Z II*.

Was het mogelijk de cultures van de stammen *Z I* en *Z II* te onderscheiden van die van de stammen *E* en *W*, het gelukte niet een kenmerk te vinden waardoor cultures van de stammen *E* en *W* van elkaar te onderscheiden zijn.

Vermoedelijk bestaat er wel een zoodanig verschil tusschen de stammen *Z I* en *Z II*. Verscheidene malen werd n.l. geconstateerd, dat in de oudere cultures van stam *Z II*, gekweekt bij 20°, 25° en 30° C. op kersenagar, het mycelium in het centrum der cultuur eerder zwart werd dan gelijktijdig, even oude, op gelijke wijze en op dezelfde agar gekweekte cultures van stam *Z I* (zie plaat 6).

APPENDIX.

Na het afsluiten van het manuscript ontvingen wij nog een publicatie van Dr. BÖNING (1926), betreffende een onderzoek naar de identiteit van de door SCHAFFNIT en BÖNING (1925) bij hun onderzoekingen over de vatbaarheid van boonenvariëteiten gebruikte z.g. „Bonner Stamm" van *Colletotrichum Lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. met de rassen α, β en γ van BARRUS (1911 en 1918) en BURKHOLDER (1923) en met de rassen X_2, X_4 en X_8 van LEACH (1923).

BÖNING verrichtte infectieproeven op boonenpeulen, welke los van de plant geplaatst waren in vochtige kamers en infecteerde de peulen door het opbrengen van druppels eener sporensuspensie. Veertien dagen na de infectie werden de resultaten genoteerd.

SCHAFFNIT en BÖNING (1925) vermelden, dat de op deze wijze verrichte infecties een even juiste maatstaf leveren voor de vatbaarheid der boonenvariëteiten als de infecties van planten of van peulen, welke nog aan de plant vastzitten.

Hoewel genoemde infectie-methode geheel van de door ons gevolgde verschilt, meenen wij toch de uitkomsten van de proeven van BÖNING te kunnen vergelijken met die, welke wij verkregen bij infectie met de stammen *Z I*, *Z II*, *E* en *W* van een drietal Amerikaansche boonenvariëteiten, die zoowel BARRUS (1918) als BÖNING (1926) bij hun onderzoekingen gebruikten.

In onderstaande tabel zijn naast elkaar aangegeven: de vatbaarheidsgraad voor de rassen *Z I*, *Z II*, *E* en *W*; de door BARRUS (1918) en BURKHOLDER (1923) vermelde vatbaarheid van deze variëteiten voor de rassen α, β en γ en de door BÖNING (1926) geconstateerde vatbaarheid voor de „Bonner Stamm".

Vatbaarheidsgraad voor de stammen:

Boonenvariëteit.	*Z I* [1]	*Z II* [1]	*E* [1]	*W* [1]	[1]	„Bonner Stam" [2]
Extra Early Refugee . . .	6,5	3,9	8,0	5,8	a. b,	w.
Round Pod Kidney Wax .	2,5	2,4	2,3	0,2	a. b.	h.
Kentucky Wonder	9,7	3,3	—	2,4	a B C.	i.

Uit deze tabel blijkt duidelijk, dat de „Bonner Stamm" niet identiek is met een der rassen *Z I*, *Z II*, *E* of *W*.

[1]) Vatbaarheidsgraad aangegeven als in tabel 1 p. 9.

[2]) Door BÖNING gebruikte aantastingsgraden: i = sehr widerstandsfähig, w = widerstandsfähig, h = hoch anfällig."

HOOFDSTUK II.

OVERWINTERING VAN COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM IN AARDE.

§ 1. LITERATUUR.

CUNNINGHAM vermeldt, dat *Colletotrichum Lindemuthianum* kan overwinteren in aangetaste deelen van de boonenplanten. Verder acht hij het waarschijnlijk, dat de zwam in staat is op organisch materiaal in aarde gedurende eenige jaren te leven en dat van daar uit infectie van boonenplanten kan plaats hebben.

HALSTED (1896) vond, dat wanneer boonen verbouwd werden op grond, waarin het vorige jaar zieke planten stonden, deze 4 tot 6 maal zooveel aangetaste peulen gaven, dan wanneer zij verbouwd werden op grond, waarop nog geen boonen geteeld waren.

In 1897 vermeldt HALSTED dat boonen op grond, waarin een vorig jaar aangetaste planten en peulen ondergebracht waren, meer zieke peulen gaven dan boonen geteeld op grond, waarin heide ondergebracht was.

PFEIFFER (1910) deelt mede, dat de ziekte wel optreedt in jaren, dat elders geen aantasting plaats heeft op die plaatsen, waar men elk jaar boonen verbouwt of waar men het boonenstroo gelijk met de mest onderploegt.

BARTRAM (1916) vermeldt, dat cultures van *Colletotrichum Lindemuthianum* op waterhoudende agar door lage temperaturen eerder tot afsterven gebracht worden dan cultures op uitgedroogde agar. Hij plaatste cultures op verschillende voedingsbodems in een open schuur en vond, dat op gedroogde Limaboonenagar de zwam van 13 December tot 13 April in leven bleef. Op niet-gedroogde agar waren de cultures op 17 Januari nog in leven, doch op 21 Februari niet meer. De temperaturen, waaraan de cultures blootgesteld waren, waren herhaaldelijk lager dan —10° C. De laagste geregistreerde minimum temperaturen bedroegen —13°, —9°, —23°, —19°, —29°, —22,8°, —20,5°, —14°, —26,6°, —26°, —23,3° C. De cultures op niet gedroogde agar waren na het optreden van de temperatuur van —29° C. nog in leven. de cultures op gedroogde agar hebben alle temperaturen kunnen doorstaan.

MUNCIE (1917) vond, dat de zwam kan overwinteren in aangetast boonenloof en als spore in den grond.

SCHAFFNIT (1920) vermeldt, dat de sporen van aangetaste peulen, die gedurende den winter 1919-1920 buiten bewaard waren, op 12 Februari 1920 nog kiemkrachtig waren.

BARRUS (1921) komt tot de conclusie, dat de zwam in den grond kan overwinteren in aangetast loof en dat sporen, in aarde gebracht, niet langer dan 7 weken in leven blijven. Hij vermeldt niet of de in aarde gebrachte sporen daar kiemden.

SCHAFFNIT en BÖNING (1925) meenen, dat de op de peulen gevormde conidien niet voor de overwintering van de zwam geschikt zijn, doch dat er wel overwintering door middel van in den grond gebracht aangetast boonenloof kan plaats hebben. Zij achten het waarschijnlijk, dat de door de zwam gevormde pycnosporen bij de overwintering een groote rol spelen. „Die wahrscheinlich die Stelle von Perithezien vertretenden Pykniden können andererseits in Ackerboden auf den Ernterückständen der Bohnen überwinteren und ihrerseits durch Infektion vom Boden her die Infektionsquelle für das Auftreten der Krankheit bilden".

SCHAFFNIT en BÖNING komen tot deze conclusie naar aanleiding van proeven met pycniden, die omstreeks half Januari uit een voedingsoplossing genomen werden en na langzaam drogen bewaard werden: a. in een kelder bij 10° C. in met waterdamp verzadigde lucht, b. in het laboratorium in tamelijk droge lucht. .

De kiemkracht der pycnosporen van groep *b* verdween spoedig, reeds eind Februari kiemden ze niet meer. Bij groep *a* bleven ze langer in leven. Bij de sporen uit deze groep waren er, die begin Juni nog kiemkrachtig waren. Mijns inziens gaan SCHAFFNIT en BÖNING bij hun conclusies uit deze proeven te ver: er is niet aangetoond, dat deze sporen buiten en onder de natuurlijke omstandigheden kunnen overwinteren en zelfs is het geheel niet nagegaan in hoeverre zij lage temperaturen kunnen verdragen. Wel hebben SCHAFFNIT en BÖNING nagegaan bij welke temperatuur onder 0° C. de zwam in cultures afsterft. Zij vermelden, dat het mycelium niet afsterft, wanneer het dagenlang bij een temperatuur in de buurt van het nulpunt gehouden wordt. Eerst temperaturen van —3° tot —5° C. dooden het bij langdurige inwerking. Cultures op stijfsel, die 2—3 dagen bevroren gehouden werden, toonden na ontdooien geen verderen groei. Kortstondig bevriezen

(2—3 uur) doodde echter het mycelium niet. Het betrekkelijk spoedig sterven der cultures bij een temperatuur van —3° tot —5° C. kan m. i. wel veroorzaakt geweest zijn door het gebruik van stijfsel als voedingsbodem. De structuurverandering van dit substraat bij bevriezen is zeer waarschijnlijk de oorzaak van het spoedig afsterven der cultures geweest.

§ 2. EIGEN WERK.

Uit de literatuuropgaven blijkt, dat niet zeker is, of de zwam zonder deelen van boonenplanten in de aarde kan leven, en of zij lage temperaturen verdragen kan.

Om in deze vragen meer inzicht te krijgen, werden volgende proeven genomen: buizen met een steriel mengsel van beukenbladaarde en zand werden overgoten met eenige c.c. eener sporensuspensie, welke verkregen was door acervuli van stam *E*, gekweekt op steriele stengels van *Vicia faba*, te brengen in steriel water.

Aan de bladaarde werd op deze wijze geen deelen van boonen toegevoegd.

De op deze wijze behandelde buizen werden 4 dagen bij 17° C. geplaatst. Na deze 4 dagen was macroscopisch mycelium-ontwikkeling waar te nemen. De aarde was toen geheel met mycelium doorgroeid. Vervolgens werd een deel der cultures bij verschillende temperaturen in thermostaten in een koelkelder, een ander deel buiten geplaatst.

Geregeld werd nagegaan of de zwam nog in leven was, door aarde uit de buizen op boonenagar in Petrischalen te brengen.

De buizen werden met de sporen suspensie overgoten 12 November 1923 en op 16 November werden ze gebracht:

groep I in een thermostaat bij 20° C.;
„ II „ „ „ „ 2° C.;
„ III „ „ koelkelder, waarin de temperatuur overdag daalde van —2° C. tot —7° C. en 's nachts opliep van —7° C. tot —2° C.;
„ VI werd buiten geplaatst onder een afdak, open naar de Z.W.- en de N.O.-zijde. De cultures stonden beschut tegen regen en sneeuw.

Gedurende de proefperiode daalde de temperatuur buiten meerdere malen beneden 0° C. Op een, op korten afstand van de plaats, waar de cultures bewaard werden, gelegen terrein werd

geregistreerd, dat de temperatuur op 88 etmalen korteren of langeren tijd beneden het nulpunt was; op 33 dagen was de temperatuur lager dan —5° C., op 12 dagen lager dan —7° C. en op 5 dagen lager dan —10° C. De laagste temperatuur werd geregistreerd op 31 December 1923, deze bedroeg —16° C.

Op de volgende data was de temperatuur geregeld onder 0° C.: 25—28 Nov. (min. temp. —5°); 30 Nov.—2 Dec. (min. temp. —6,6°); 19—22 Dec. (min. temp. —6°); 25 Dec.—9 Jan. (min. temp. —16°); 14—18 Jan. (min. temp. —9°); 23—27 Jan. (min. temp. —6,1°); 11—18 Febr. (min. temp. —9,1°); 27—29 Febr. (min. temp. —8°), terwijl zij van 4—21 Maart iederen nacht onder 0° C. daalde. Deze gegevens werden ons welwillend door Professor Dr. D. VAN GULIK verstrekt.

De resultaten van deze proef zijn weergegeven in tabel 5. Telkens werd van twee buizen nagegaan of de zwam nog in leven was.

TABEL 5. *Overwintering van* Colletotrichum Lindemuthianum *op bladaarde.*

Bewaarwijze Gecontroleerd na:	3	6	10	17	27	62	68	80	132	155 dagen.
Groep I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ II.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„ III	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*)
„ IV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*)

Uit tabel 5 blijkt, dat de zwam onder de meest verschillende omstandigheden op bladaarde kan blijven leven. Dat de cultures uit groep IV, die buiten overwinterd hebben, na de extreem koude winter van 1923—'24 nog in leven waren, maakt het zeer waarschijnlijk, dat de zwam in het Hollandsche klimaat in aarde, saprophytisch levende, kan overwinteren. Over het algemeen kunnen organismen zeer slecht een herhaald bevriezen en weder ontdooien verdragen, doch hier hebben de cultures van groep IV een dergelijke geregelde schommeling in temperatuur, zooals die aan het einde van de bewaarperiode optrad (de nachtvorsten van 4—21 Maart met hooge temperatuur overdag) zonder schade verdragen.

Verder werd nagegaan, hoe lang een temperatuur van —15° C.

*) Niet meer gecontroleerd.

tot —20° C., een temperatuur, die in Nederland in den grond zeer zelden optreedt, verdragen kan worden.

Voor deze proef werden gebruikt cultures uit de groepen I, II, III en IV van de vorige proef.

De buizen werden in metalen kokers opgehangen op eenige diepte onder de vloeistofspiegel van de pekel eener koelinrichting. De temperatuur bedroeg overdag —19° à —20° C. en steeg in den nacht tot —15°C. Na 2, 4, 6, 8 en 10 dagen werd nagegaan of de zwam nog leefde.

Tabel 6 geeft de resultaten van deze proef.

TABEL 6.

Aantal cultures.	Voorbehandeling.	Aantal dagen bij -15°-20° C.	Resultaat overenting.	Aantal dagen, waarin na de overenting acervuli gevormd worden.	Gemiddeld aantal dagen.
2	80 dagen groep I (20°) . .	2	+	6	6
2	80 „ „ II (2°) . . .	2	+	6	
2	80 „ „ III (-2° tot -7°)	2	+	6	
2	80 „ „ IV (buiten) .	2	+	6	
2	80 „ „ I	4	+	[1]	—
2	80 „ „ II	4	+	[1]	
2	80 „ „ III	4	+	[1]	
2	80 „ „ IV	4	+	[1]	
2	80 „ „ I	6	+	6	6,5
2	80 „ „ II	6	+	7	
2	80 „ „ III	6	+	6,5	
2	80 „ „ IV	6	+	6,5	
2	80 „ „ I	8	+	7	6,9
2	80 „ „ II	8	+	7	
2	80 „ „ III	8	+	6,5	
2	80 „ „ IV	8	+	7	
2	80 „ „ I	10	+	7	7,25
2	80 „ „ II	10	+	7	
2	80 „ „ III	10	+	8	
2	80 „ „ IV	10	+	7	

[1]) Alle vormden sporen, doch de tijd, die voor de vorming noodig was, werd niet genoteerd.

Uit tabel 6 blijkt, dat de temperatuur van —15° C. tot —20° C. goed werd verdragen. De duur van bewaring bij deze temperatuur bleek invloed uit te oefenen op de tijdsduur, die de zwam noodig heeft om, na het overenten van bladaarde op boonenagar, acervuli te vormen en wel zóó, dat bij langere bewaring bij —15° C.— —20° C. langeren tijd voor acervulus-vorming noodig is.

We kunnen de resultaten dezer proeven als volgt samenvatten:

Colletotrichum Lindemuthianum kan 5 maanden lang, onder de meest verschillende omstandigheden op bladaarde leven.

Cultures van *Colletotrichum Lindemuthianum* op bladaarde kunnen 132 dagen bij een temperatuur van —2° C. tot —7° C. bewaard worden, zonder af te sterven.

Een bewaring van 80 dagen bij een temperatuur van —2° C. tot —7° C. gevolgd door 10 dagen plaatsen bij —15° C. tot —20° C. is niet in staat de zwam, gekweekt op bladaarde, te dooden.

Langere bewaring bij een temperatuur van —15° C. tot —20° C. heeft de strekking den duur, welke de zwam voor sporevorming op daarvoor geschikt substraat noodig heeft, te vergrooten.

HOOFDSTUK III.

PERITHECIUM VORMING.[1])

§ 1. LITERATUUR.

FRANK (1883) heeft zonder succes getracht bij *Colletotrichum Lindemuthianum* perithecien te verkrijgen door aangetaste peulen buiten te laten hangen gedurende den winter of door deze in den grond te begraven.

Ook Miss STONEMANN (1898) was niet in staat bij *Colletotrichum Lindemuthianum* peritheciën te vinden.

SHEAR en WOOD (1907) zijn de eersten, die vermelden bij *Colletotrichum Lindemuthianum* perithecien gevonden te hebben. Zij leggen er vooral den nadruk op, dat het bepaalde stammen zijn, die de eigenschap tot peritheciumvorming bezitten en dat, wanneer men een zoodanige stam in cultuur heeft, voedingsbodem en uitwendige omstandigheden weinig invloed op het ontstaan van perithecien uitoefenen.

Als meest voor peritheciumvorming geschikte voedingsbodem wordt maismeelagar genoemd. SHEAR en WOOD zeggen (p. 262): „We have found by repeated experiments that if a culture from any particular acervulus or group of averculi does not produce an ascogenous stage on corn meal at 75° tot 85° F. it is useless to experiment further with the material from the same source. Fresh material from other specimens must be tried until a race, strain or generation is found which will produce its ascogenous form".

Een beschrijving van den vorm en de afmetingen der perithecien en der ascosporen ontbreekt, evenals een bewijs, dat ascogene stammen, welke van boonenpeulen geïsoleerd waren, werkelijk stammen van *Colletotrichum Lindemuthianum* zijn.

Naar aanleiding van de resultaten van SHEAR en WOOD (1907) zegt EDGERTON (1908), dat het misschien mogelijk is, dat een enkele maal een appel-*Colletotrichum*, welke tot peritheciumvorming in staat is, op boon voorkomt, doch dat niet uit te maken is, of dit het geval geweest is door het ontbreken van een beschrijving van de cultures in het werk van SHEAR en WOOD.

---

[1]) Het in dit hoofdstuk behandelde onderzoek kon niet geheel afgewerkt worden. De verkregen resultaten worden echter gepubliceerd, daar zij eenige aanwijzingen voor verder onderzoek kunnen leveren.

In een meer uitvoerige publicatie in 1913 deelen SHEAR en WOOD mede, hoe het hen gelukt is van *Colletotrichum Lindemuthianum* peritheciën te verkrijgen.

Met het oog op het groote belang van deze mededeeling laten wij haar hier in haar geheel volgen:

„Numerous cultures of the bean anthracnose have been made at different times and in different seasons. The cultures from conidia in most cases have been rather uniform in appearance and behavior, agreeing with the descriptions given by Atkinson, Whetzel, Edgerton, and others. In 16 slant agar tubes made November 3 from different acervuli on 5 bean pods the growth soon became very dark colored. This appears to be quite a constant characteristic of this species, and all the cultures made were practically identical in appearance during their growth. *No perithecia were produced in the cultures.* [1])

The acervuli varied greatly in number and size in different cultures and setae, though usually present, were not numerous. Many chlamydospores were also found in some cultures. Cultures from single conidia, showing the usual appearance of the fungus, are shown in Plate VII.

In December cultures were made in flasks of corn meal by transfer of conidia and a bit of tissue from a bean pod bearing acervuli of the bean-anthracnose fungus, later, all of the flasks showed good perithecia and asci, but conidia were scarce or wanting. An ascus and ascospores are shown in Plate I, figures 13 and 13*a*. These cultures became finally contaminated and were discarded. Plates were previously made from them, using the crushed perithecia and asci. The ascospores germinated readily and produced a dense growth of mycelium of the usual appearance. *No conidia were found in these plates.* [1]) Other plates poured from the same ascospore material produced the same typical mycelial growth; and at the end of 12 days perithecia were present in great numbers, *but no conidia were found.* [1]) Other plates were poured on March 16. A single ascospore transferred to a tube and afterwards to a flask of corn meal produced the usual growth of mycelium; and on April 3 an abundance of perithecia with mature asci were present, but *no conidia were seen.* [1])

---

[1]) Cursiveering van mij.

This is the only case in the writers' experience with these organisms in which cultures made from ascospores have produced no conidia or if they were formed they were so few in number that they escaped observation. It does not appear, however, that there can be any doubt about these perithecia belonging to the bean anthracnose. The cultures were originally started from the conidial form on a bean pod and conidia were found in the first cultures with the perithecia. The perithecia, asci, and all the morfological characters of the fungus agree with Glomerella, as will be observed by comparing Plate I, figures 13 and 13*a*, and also the measurements of conidia and ascospores. The fact that conidia were few in the original culture and wanting in others apparently shows only an extreme variation in this particular, as cultures from different hosts have shown a great degree of variability in respect to the relative abundance of the different spore forms in any race or strain, and there seems to be a general tendency on the part of cultures from ascospores to produce fewer conidia than do those which originate from conidia.....

.....

..... In one other series of cultures from conidia, from a bean a few small peritheciumlike bodies were found at the edge of the culture, but no asci or ascospores were obtained.

The appearance and behavior of this organism in cultures, as well as the failure of cross-ionculation experiments, apparently shows it tot possess sufficiently well-marked characteristics to justify its separation as a distinct species, though the perithecial form taken alone could be distinguished with great difficulty, if at all, from that obtained from other hosts. It is tentatively named *Glomerella Lindemuthiana.*" (SHEAR and WOOD 1913: 46—47).

Verder spreken deze auteurs het vermoeden uit, dat vóór de peritheciumvorming in het geslacht *Glomerella* het blijkbaar niet noodig is, dat bevruchting of kernversmelting van twee verschillende individuen plaats heeft. De eventueel optredende kernfusies moeten plaats hebben tusschen kernen van hetzelfde individu, daar ook één-spore cultures rijkelijk perithecien vormden.

De resultaten van SHEAR en WOOD mogen niet zonder critiek aanvaard worden.

Het is niet zeker, dat de cultures, waarin zij perithecien vonden, cultures van *Colletotrichum Lindemuthianum* waren. Zij hebben

deze cultures verkregen door enten van conidien en aangetast weefsel van een zieke peul op een voedingsbodem. Men is er blijkbaar van uitgegaan, dat de op zoodanige wijze verkregen „ruw-cultuur" een cultuur van *Colletotrichum Lindemuthianum* was. Dat dit niet het geval behoeft te zijn, blijkt uit een onderzoek van EDGERTON (1915, p. 254—256). Deze heeft van aangetaste boonenpeulen ascogene *Colletotrichum* stammen geïsoleerd, welke tot de soort *Glomerella cingulata* behoorden.

EDGERTON zegt dan ook met betrekking tot de resultaten van SHEAR en WOOD: „As SHEAR and WOOD performed no inoculation experiments with their ascogeneus culture to prove pathogenicity, it seems more reasonable to suppose that they had a culture of *Glomerella* that was accidental on the bean and was not the true bean anthracnose fungus itself." (EDGERTON 1915, p. 256). Ook is het mislukken van kruisinfecties op vruchten en andere gewassen bij de proeven van SHEAR en WOOD geen bewijs, dat hun perithecien-vormende stam *Colletotrichum Lindemuthianum* was. Die kruisinfecties zijn gedaan o. a. met conidien van reincultures. Reincultures van de perithecien produceerende stam leverden geen conidien, zooals de auteurs met nadruk betoogen, dus de conidien van reincultures gebruikt voor kruisinfecties waren van niet-ascogene stammen afkomstig. Ook zijn geen kruisinfectieproeven gedaan met conidien van de peul, waaruit de ascogene vorm geïsoleerd is.

Het ontbreken van infectieproeven met de ascogene vorm op boonen en het eveneens ontbreken van kruisinfecties met deze stam op appels en andere vruchten maakt, dat in het geheel niet aangetoond is, dat de door SHEAR en WOOD geïsoleerde *Glomerella* identiek is met *Colletotrichum Lindemuthianum*.

KRÜGER (1913) beschrijft, hoe hij op allerlei manieren getracht heeft *Colletotrichum Lindemuthianum* tot peritheciumvorming te brengen: door het plaatsen van cultures in het licht en in het donker, door gebruik te maken van warmte en koude, door ze op rijke en arme voedingsbodems te kweeken, door droog of nat substraat te gebruiken, door toevoeging van bepaalde bacteriën aan de cultures. Het gelukte echter niet peritheciën te verkrijgen.

Hij schrijft het niet optreden van peritheciën in zijn cultures toe aan de mogelijkheid, dat hij met stammen gewerkt heeft, die niet het vermogen hebben een hoogere vruchtvorm te produceeren. Toch schakelt hij de mogelijkheid niet uit, dat SHEAR en WOOD

inderdaad peritheciën bij *Colletotrichum Lindemuthianum* gevonden hebben en bij de vaststelling van de nomenclatuur van de zwam handhaafd KRÜGER de naam *Glomerella Lindemuthiana* Shear n. comb.

EDGERTON (1915) toont aan, hoe hij enkele malen uit de vlekken van aangetaste boonen *Glomerella* species geïsoleerd heeft, die ascogeen waren. Deze bleken bij het kweeken bij verschillende temperaturen een gelijke groeicurve te leveren als *Glomerella cingulata*. Deze *Glomerella* species leefden blijkbaar saprofytisch in de door *Colletotrichum Lindemuthianum* aangetaste plekken der boonen.

Uit het in het bovenstaande aangehaalde citaat (zie p. 27) is wel gebleken, dat EDGERTON ten zeerste betwijfeld of SHEAR en WOOD peritheciën van *Colletotrichum Lindemuthianum* gezien hebben. EDGERTON zelf heeft ze in de honderden cultures, die hij onderzocht nooit waargenomen en hij concludeert:

„It is doubtful if the perithecial stage of *Colletotrichum Lindemuthianum*, the fungus causing bean anthracnose, has ever been seen".

HEMMI (1920) vermeldt nooit perithecien van *Colletotrichum Lindemuthianum* te hebben gevonden.

SCHAFFNIT (1920, 1922) zegt, dat hij ondanks jaren lang onderzoek noch in cultures noch op buiten overwinterde aangetaste peulen perithecien gevonden heeft.

Ook SCHAFFNIT en BÖNING (1925) komen tot dit zelfde resultaat en zij vinden, dat na de vele negatieve uitkomsten van de onderzoekingen over de perithecium vorming bij *Colletotrichum Lindemuthianum* het niet gerechtvaardigd is deze zwam tot het geslacht *Glomerella* te rekenen.

§ 2. EIGEN ONDERZOEK.

In culturen van stam *Z I* op boonengelatine werden in October 1923 ongeveer bolvormige lichamen waargenomen, die bestonden uit een wandlaag van bruingekleurde cellen schijnbaar zonder inhoud, ongeveer 10 μ breed, die een holte, gevuld met protoplasma bevattend kleurloos mycelium, omgaven. Deze mycelium draden waren 4 — 5,5 μ breed.

Later werden dergelijke lichaampjes gevonden in cultures van de stammen *E*, *Z II* en *W* op boonengelatine.

Ook ontstonden ze aan de rand en diep in de agar van cultures op boonenagar.

Steeds traden deze lichamen op in oudere cultures.

Deze lichamen waren geen pycniden, daar geen pycnosporen gevonden werden.

Met behulp van met de microtoom gesneden coupes werd getracht een inzicht te krijgen in de bouw en de aard van de gevonden lichamen. Het materiaal werd gefixeerd in Gilson's fixing liquid [1]) en de coupes (4—6 μ) dik werden gekleurd in Haidenhain's haematoxyline. De vorm der lichamen was bolrond tot min of meer peervormig. Binnen de wandlaag van wijde, bruingeel gekleurde cellen lag een nauw aaneensluitend weefsel van ongeveer evenwijdig loopende myceliumdraden, welke een holte omsloten. In deze holte lagen hyphen, welke groote overeenkomst vertoonden met jonge asci. (Zie plaat 16.) Deze hyphen waren ongeveer cylindrisch en in vele gevallen kon worden waargenomen, dat zij meerdere kernen bevatten. Nooit waren meer dan 8 kernen per hyphe aanwezig. Het ligt voor de hand om aan te nemen, dat de gevonden lichamen jonge perithecien zijn. De vorm en de inwendige bouw, het ontbreken van pycnosporen en het meerkernig zijn der op asci gelijkende hyphen doen vermoeden, dat we hier te doen hebben met een ascogene vorm van de zwam, waarbij de asci en de ascosporen niet tot volledige ontwikkeling zijn gekomen.

Hoewel hier niet bewezen is, dat we werkelijk met de ascogene vorm van de zwam te doen gehad hebben, willen wij deze naam toch in het onderstaande gebruiken om verwarring met pycniden te voorkomen.

Hoeveel moeite hiervoor ook gedaan is, het is nooit mogen gelukken de „ascogene vorm" tot een verder ontwikkelingsstadium dan het hierboven beschrevene te brengen. Ook dit is er een aanduiding voor, dat de waargenomen lichamen geen pycniden waren. In pycniden zijn reeds bij zeer jonge stadia de pycnosporen waar te nemen en ook kon bij jonge pycniden, die uit de cultuur, waarin zij ontstaan waren overgeënt werden, waargenomen worden, dat zij tot volledige ontwikkeling kwamen.

Dit uitblijven van de verdere ontwikkeling bewijst reeds, dat

---

[1]) Gilson's fixing liquid: 42 cc alcohol 96%, 60 cc water, 18 cc ijsazijn, 2 cc geconcentreerd salpeterzuur, 11 cc eener verzadigde sublimaat oplossing. 6—24 uur fixeeren en daarna uitwasschen in 70%ige alcohol.

de „peritheciën" geen pycniden waren. Bij de om tot dit doel te geraken verrichte onderzoekingen bleek, dat de ouderdom van de cultures invloed uitoefende op het optreden van de perithecium-achtige lichamen. De „ascogene vorm" trad op wanneer de cultures op boonenagar in cultuurbuizen ongeveer 2½ maand oud waren.

Verder bleek, dat behalve de ouderdom der cultures, het licht op het optreden van perithecium-achtige lichamen veel invloed uitoefent en wel zoo, dat plaatsing der cultures in het licht het optreden van de ascogene vorm bevordert.

Dit blijkt uit het resultaat van de volgende proef.

Op 3 December 1923 werden 10 één-spore cultures van stam E op boonenagar in cultuurbuizen in het volle licht en 10 cultures in hetzelfde vertrek, onder overigens geheel dezelfde omstandigheden, in het donker geplaatst, bij een temperatuur van 16° C.

Op 15 Februari 1924 hadden alle 10 in het licht geplaatste cultures perithecium-achtige lichamen gevormd, terwijl in de, in het donker geplaatste, cultures dit niet het geval was. Van deze laatste waren op 15 Maart 1924 slechts in 2 cultures enkele op perithecien gelijkende lichamen te vinden. In April 1924 werd deze proef herhaald met een grooter aantal cultures en werd hetzelfde resultaat verkregen. Drie maanden na het inzetten van de proef hadden 28 van de 30 in het licht geplaatste cultures en 3 van de 30 in het donker geplaatste cultures perithecium-achtige lichamen gevormd.

In October 1925 werd dezelfde proef nog eens genomen, met dezelfde stam E der beide vorige proeven, doch nu traden noch in de in het licht geplaatste cultures, noch in de in het donker geplaatste cultures perithecium-achtige lichamen op. Daar de inrichting van deze proef geheel gelijk was aan die der vorige, kan men uit het niet optreden van perithecium-achtige lichamen in de cultures van October 1925 concludeeren, dat, behalve de invloed van het licht en van de ouderdom der cultures nog meer factoren het optreden van de „ascogene" vorm beïnvloeden.

In één geval werd gevonden, dat in een cultuur, waarin toevallig, een houtsplinter in de voedingsbodem aanwezig was, de perithecium-achtige lichamen zich tegen deze splinter vormden. (Zie plaat 16). SHEAR en WOOD (1913) vonden iets dergelijks bij de peritheciumvorming van *Glomerella cingulata* afkomstig van *Persea gratissima* Gaertn. Wij hebben naar aanleiding hier-

van getracht *Colletotrichum Lindemuthianum* tot peritheciumvorming te brengen door in de voedingsbodem harde deelen zooals filtreerpapier, wattenvezels en houtsplinters te brengen. In geen enkel geval kon echter toename in aantal der perithecium-achtige lichamen geconstateerd worden.

DEEL II.

ONDERZOEKINGEN OVER EEN GLOEOSPORIUM SPEC. GEÏSOLEERD VAN PHASEOLUS MULTIFLORUS WILD.

§ 1. BESCHRIJVING DER ZWAM.

In September 1924 werd ons uit Dinxperlo (Gld.) toegezonden een peul van *Phaseolus multiflorus*, welke op anthracnose gelijkende vlekken vertoonde. De peul was geheel volgroeid en reeds bijna volkomen uitgedroogd. Conidien werden op de aangetaste plekken niet aangetroffen. Na vochtig leggen der peul ontwikkelden zich acervuli. Van conidien uit een acervulus werden strooicultures gemaakt en hieruit werd een zwam in reincultuur voortgekweekt. Op steriele stengels van *Vicia faba* en van aardappelen en ook op boonen- en kersenagar vormde de zwam vrij veel acervuli; doch ook buiten de acervuli werden sporen gevormd aan het einde van hyphen. De kleur der acervuli was rose.

De sporen waren eencellig, aan beide einden afgerond, meestal recht, soms eenigszins gebogen. In de sporen waren talrijke vacuolen gevuld met een sterk lichtbrekende stof.

Van 500 sporen uit acervuli op kersenagar werd lengte en breedte gemeten en hierbij werd het volgende resultaat verkregen.

Lengte in μ	Breedte in	Correlatie coëfficient.
M. $\pm$ m.	M. $\pm$ m.	$r \pm \delta_r$
9,67 $\pm$ 0,06	5,69 $\pm$ 0,03	0,27 $\pm$ 0,01

Behalve acervuli werden in oudere cultures pseudopyoniden en pycniden aangetroffen. De pseudopycniden onderscheiden zich van de pycniden door verschil in wandlaag, welke bij de pseudopycniden uit dunwandig licht gekleurd mycelium bestaat, terwijl bij de pycniden dit mycelium dikwandig en donkerbruin gekleurd is. Herhaaldelijk werd waargenomen, dat de pycniden tot groepen van 3—10 vereenigd waren, waarbij in deze groepen de afscheidingswanden tusschen de afzonderlijke pycniden al dan niet volkomen waren.

In de acervuli werden nooit setae gevonden; de zwam moet hierom tot het geslacht *Gloeosporium* gerekend worden.

In het onderstaande is het hier besproken *Gloeosporium* spec. aangeduid als cultuur *K*.

Om na te gaan, of er groeiverschillen tusschen de stammen *Z I, Z II, E* en *W* van *Colletotrichum Lindemuthianum* en cultuur *K* bestonden, werden deze naast elkaar in dezelfde Petrischaal gekweekt zoowel op kersen- als op boonenagar. Op deze platen werd van iedere stam geënt een stukje van een goed groeiende kolonie, groot 4 × 4 mm. De schalen werden in een thermostaat bij een temperatuur van 15° C. geplaatst. Op beide voedingsbodems groeide stam *K* veel sneller dan de andere stammen (Plaat 7 en 8).

Bovendien onderscheidde stam *K*, gekweekt op boonenagar, zich door sterke ontwikkeling van luchtmycelium. Op de kersenagar, waar ook vrij veel luchtmycelium gevormd werd, was de kolonie van cultuur *K* vlakker, waardoor een geheel andere habitus ontstond dan op boonenagar. De kleur der kolonie van stam *K* op boonenagar was wit, op kersenagar eerst grijs-wit, later grauw.

§ 2. INVLOED VAN DE TEMPERATUUR OP DEN GROEI.

Naar aanleiding van het groote verschil in groeisnelheid tusschen de stammen van *Colletotrichum Lindemuthianum* en stam *K*, dat in bovenstaande proef bij een temperatuur van 15° C. verkregen werd, werd nagegaan de invloed van de temperatuur op den groei van stam *K*.

Deze proeven werden genomen gelijktijdig met en geheel gelijk aan die met de stammen *Z I, Z II, E* en *W* van *Colletotrichum Lindemuthianum*. Voor beschrijving der werkwijze zie p. 14.

In tabel 7 zijn de resultaten vermeld van de proeven betreffende den invloed van de temperatuur op den groei van stam *K* en van eenige uit stam *K* ontstane stammen, welke in het onderstaande nader besproken zullen worden. Ter vergelijking is in tabel 7 opgenomen de groeisnelheid van de stammen *Z I, Z II, E* en *W* van *Colletotrichum Lindemuthianum*, van *Gloeosporium fructigenum* Berk. f. *americana* Kr., *Gloeosporium fructigenum* Berk. f. *germanica* Kr. en van de stammen *K A, K B 1* en *K B 2*, welke als constante variaties van stam *K* beschouwd moeten worden (zie § 3—6), bij de betreffende temperaturen.

TABEL 7. *Dagelijksche groei in mm.*

Cultuur.	Temperatuur:						
	5° C.	10° C.	15° C.	20° C.	25° C.	30° C.	35° C.
K	3,6	6,5	9,2	13,3	15,4	4,6	0
K A	3,9	6,4	9,2	13,3	15,8	4,9	0
K B 1.	0,4	2,4	6,0	8,4	9,3	9,1	0
K B 2.	1,8	3,6	5,3	6,9	4,3	0	0
Gloeosporium fructigenum f. americana	0	0,9	6,0	8,4	11,2	5,9	0
Gloeosporium fructigenum f. germanica	0,8	1,1	2,3	3,8	2,9	0	0
Z I . .	1,0	1,9	4,1	4,7	4,0	0	0
Z II. . Colletotrichum	0,6	2,0	4,2	5,3	4,9	0,1	0
E . . Lindemuthianum .	0,2	1,2	3,1	4,2	5,0	0,5	0
W . .	0,2	1,2	3,3	4,0	5,4	0,6	0

§ 3. INFECTIE PROEVEN OP KIEMPLANTEN VAN *PHASEOLUS VULGARIS L.*

Het ontbreken van setae in de acervuli van de *Gloeosporium* spec. geïsoleerd van *Phaseolus vulgaris* kan niet dienen om de zwam van *Colletotrichum Lindemuthianum* te onderscheiden, daar deze laatste, onder bepaalde omstandigheden, ook geen setae in de acervuli vormt (zie KRÜGER 1913).

Om na te gaan of de van *Phaseolus multiflorus* geïsoleerde *Gloeosporium* spec. een biologisch ras van *Colletotrichum Lindemuthianum* is, waarvan ook enkele gevallen van aantasting van *Phaseolus multiflorus* (BARRUS 1918) bekend zijn, werden infectieproeven verricht op kiemplanten van boonenvariëteiten, waarvan de vatbaarheidsgraad voor eenige biologische rassen van *Colletotrichum Lindemuthianum* nauwkeurig bekend was.

De infecties werden verricht op de wijze als op p. 6 en 7 beschreven is. De voor de infecties benoodigde sporen van cultuur *K* werden verkregen door van een één-spore cultuur over te enten op steriele stengels van *Vicia faba*.

De resultaten van de infectie proeven zijn weergegeven in tabel 8. In de tweede kolom van tabel 8 is vermeld voor welke biologische rassen van *Colletotrichum Lindemuthianum* de betreffende boonenvariëteit sterk of vrij sterk vatbaar was.

Bij de planten, waarbij in tabel 8 vermeld staat, dat de zwam wel binnengedrongen, doch daarna afgestorven is, werd gevonden,

TABEL 8. *Vatbaarheid van kiemplanten van* Phaseolus vulgaris L. *voor cultuur K.*

Variëteit.	vatbaar voor:	Aantal planten.	Resultaat van de infecties met cultuur K.
Ruby Horticultural Bush, Minn. 98.	*Z I, Z II*	19	spoor van aantasting.
Improved Yellow Eye, Minn. 1096.	*Z I, Z II*	21	" " "
Red Indian, Minn. 1101	*E, W*	19	" " "
Navy, Minn. 1083.	*E, W*	15	" " "
Brown Swedish, Minn. 132	*Z I, Z II, E*	22	" " "
Red Kidney, Minn. 156	*Z I, Z II*	21	zwam ingedrongen en afgestorven.
Navy, Minn. 69	*E, W*	21	spoor van aantasting.
White Kidney.	*Z I, Z II*	24	zwam ingedrongen en daarna afgestorven.
Well's Red Kidney.	*Z I, Z II* (matig vatbaar)	24	zwam ingedrongen en daarna afgestorven.
White Imperial	*Z I, Z II* (licht vatbaar)	24	zwam ingedrongen en daarna afgestorven.
White Marrow	*Z I, E*	24	zwam ingedrongen en daarna afgestorven.
Round Pod Kidney Wax.	*Z I, Z II, E* (licht vatbaar)	24	zwam ingedrongen en daarna afgestorven.
Refugee Wax	*Z I,* (licht vatbaar) *E*	24	spoor van aantasting.
Extra Early Refugee	*Z I, E, W*	24	zwam ingedrongen en afgestorven.

dat de sporen gekiemd waren, het mycelium enkele cellen binnengedrongen en daarna afgestorven was. De op deze wijze aangetaste planten vertoonden talrijke bruine vlekjes, 0,5—1 mM. lang en 0,1 mM. breed. (Zie plaat 11.) Dit infectie type is uitvoerig besproken door LEACH 1923. De vlekken kwamen voor op het hypocotyle stengeldeel en op de bladstelen. In andere variëteiten was de zwam slechts op zeer weinig plaatsen ingedrongen. De gevormde vlekjes waren met het bloote oog nauwelijks waarneembaar. Deze wijze van aantasting is in de tabel vermeld als: spoor van aantasting. Behalve de in tabel 8 genoemde variëteiten werden planten van de variëteit Round Pod Kidney Wax met stam K geïnfecteerd. Van 23 geïnfecteerde planten was in 22 stuks de zwam ingedrongen en daarna afgestorven. Bij 1 exemplaar echter was de aantasting verder voortgeschreden en ontwikkelden zich op de stengel, op de bladeren en aan den wortelhals vrij groote vlekken, (Plaat 9). Op deze plant werden ± 250 infectieplaatsen geteld, waarvan 38 op het epicotyle stengeldeel, ± 100 op het hypocotyle stengeldeel en ± 100 op de bladeren. Op de grootere vlekken ontstonden acervuli.

Deze vrij sterk aangetaste plant stond te midden van de andere planten van dezelfde soort. De sterkere aantasting van deze eene plant kan niet het gevolg zijn van een verontreiniging der gebruikte sporen-suspensie met sporen van *Colletotrichum Linde-*

muthianum. In dat geval hadden meerdere planten aangetast moeten zijn.

Dat één plant van de variëteit Round Pod Kidney Wax zooveel sterker aangetast werd dan de andere planten van deze variëteit is alleen te verklaren door aan te nemen, dat deze plant in vatbaarheid voor cultuur *K* afweek van de andere planten.

Uit het resultaat van de infectieproeven kunnen we concludeeren, dat cultuur *K* niet identiek is met de stammen *Z I*, *Z II*, *E* en *W* van *Colletotrichum Lindemuthianum*. Verder is gebleken, dat cultuur *K* in zeer geringe mate virulent is voor verschillende variëteiten van *Phaseolus vulgaris* L. Ondanks de geringe virulentie bleek cultuur *K* een specifiek infectievermogen voor bepaalde variëteiten van *Phaseolus vulgaris* L. te bezitten, daar de zwam in staat was enkele variëteiten meer en andere minder aan te tasten.

§ 4. ISOLATIES UIT MET CULTUUR *K* GEINFECTEERDE PLANTEN VAN *PHASEOLUS VULGARIS* L.

Van conidien uit de acervuli ontstaan op de in het bovenstaande beschreven, sterk aangetaste plant van de Round Pod Kidney Wax Bean, werden strooiculturen gemaakt.

In deze strooicultures ontwikkelden zich *twee* soorten kolonies, welke ieder afzonderlijk werden voortgekweekt.

De zoo ontstane vormen zijn in het onderstaande aangeduid als cultuur *K B 1* en cultuur *K B 2*.

Beide vormen verschilden in hun groeiwijze op kersenagar geheel van de oorspronkelijke cultuur *K*, waarmede de plant, waaruit de cultures *K B 1* en *K B 2* geïsoleerd werden, geïnfecteerd was. Zie tabel 9, p. 39.

De koloniën van cultuur *K B 1* waren geheel overdekt met een vrijwel aaneensluitende massa opstaande myceliumdraden, waaraan conidien afgesnoerd werden. Acervuli werden nooit waargenomen. Herhaaldelijk traden in één-spore kolonies van cultuur *K B 1* sectoren op, waarin de conidiendragers minder dicht opeen stonden en minder luchtmycelium gevormd werd dan in de rest der cultuur. Deze sectoren ontstonden vaak op eenigen afstand van het centrum der kolonie.

Nagegaan werd de frequentie van het optreden van dezen afwijkenden vorm van cultuur *K B 1*. Voor dit doel werden cultures gemaakt in Petrischalen op kersenagar. De platen werden

TABEL 9. *Verschillen tusschen de culturen K, K B 1 en K B 2.*

	Cultuur *K.*	Cultuur *K B 1.*	Cultuur *K B 2.*
Kleur op kersenagar	eerst wit, later grauw, tenslotte groen zwart	wit blijvend	als cultuur *K*
Sporen vorming	acervuli, pseudopycniden, pycniden, conidien aan het einde van afzonderlijke hyphen.	uitsluitend conidien aan het einde van afzonderlijke hyphen	als cultuur *K*
Kleur der sporenmassa	rose	wit	als cultuur *K*
Geur	reukeloos	aromatische geur	als cultuur *K*
Groeisnelheid (zie tabel 7)	zeer groot	kleiner dan van cultuur *K*	als cultuur *K B 1*
Virulentie voor appels (zie § 5)	groot	minder dan cultuur *K*	als cultuur *K B 1*
Virulentie voor tomaten (zie § 5)	groot	minder dan cultuur *K*	als cultuur *K B 1*
Constante variatie	cultuur *K* levert een constante variatie, welke geheel wit is en de kleur van kersenagar geheel doet verdwijnen	Uit *K B 1* kan een, aan de hiernaast beschreven constante variatie van stam *K*, geheel gelijke vorm ontstaan.	

geënt met mycelium uit een cultuur, welke geheel normaal was. Hierbij werden volgende resultaten verkregen.

Cultuur	Cultuur
No. 1 normaal.	No. 9 1 afwijkende sector.
„ 2 „	„ 10 normaal.
„ 3 2 afwijkende sectoren.	„ 11 „
„ 4 normaal.	„ 12 1 afwijkende sector.
„ 5 „	„ 13 1 „ „
„ 6 1 afwijkende sector.	„ 14 1 „ „
„ 7 normaal.	„ 15 1 „ „
„ 8 1 afwijkende sector.	

In 8 van de 15 gevallen trad de afwijking op, welke zich van de normale vorm slechts onderscheidde door verminderde pro-

ductie van luchtmycelium. Eén-spore cultures verkregen uit strooicultures van sporen van de normale vorm leverden weer splitsende kolonies (zie plaat 12).

Cultures verkregen uit strooicultures van sporen van de afwijkende vorm van cultuur *K B 1* leverden uitsluitend cultures met verminderde luchtmycelium productie.

Uit tabel 9 (p. 37) blijkt, dat cultuur *K B 2* in bijna alle opzichten van de oorspronkelijke cultuur *K* afwijkt. Cultuur *K B 2* komt in enkele opzichten overeen met cultuur *K B 1* en in andere met de oorspronkelijke cultuur *K*. Ook werd nagegaan of er reële verschillen in de afmetingen van de conidiën bestonden tusschen de cultures *K*, *K B 1* en *K B 2*. Van iedere cultuur werden van even oude en geheel onder dezelfde omstandigheden gekweekte kolonies de lengte en de breedte van 500 sporen gemeten. Tabel 10 geeft de resultaten van deze metingen en tabel 11 de verschillen in spore-grootte tusschen de stammen onderling. In tabel 11 zijn de reële verschillen vetgedrukt.

TABEL 10. *Lengte en breedte der conidien van de cultures K, K B 1 en K B 2.*

Cultuur.	Aantal sporen.	Lengte in μ M. $\pm$ m.	Breedte in μ M. $\pm$ m.	Correlatie coefficient $r \pm \delta_r$
K	500	9,67 $\pm$ 0,06	5,68 $\pm$ 0,03	0,27 $\pm$ 0,01
K B 1 . . .	500	17,85 $\pm$ 1,95	7,95 $\pm$ 0,05	0,66 $\pm$ 0,03
K B 2 . . .	500	11,93 $\pm$ 0,11	5,66 $\pm$ 0,004	0,64 $\pm$ 0,03

TABEL 11. *Verschillen in lengte en breedte tusschen conidien van de cultures K, K B 1 en K B 2.*

Cultuur.	Lengte in μ $V \pm m_v$.	Breedte in μ $V \pm m_v$.
K B 1 — K	**8,18 $\pm$ 0,20**	**2,25 $\pm$ 0,06**
K B 1 — K B 2. . . .	**5,93 $\pm$ 0,23**	**2,30 $\pm$ 0,06**
K B 2 — K	**2,25 $\pm$ 0,12**	0,03 $\pm$ 0,05

Uit de tabellen 10 en 11 blijkt, dat de sporegrootte van de cultures *K B 1* en *K B 2* belangrijk van die der oorspronkelijke cultuur *K* afwijkt.

Waar er dit groote verschil bestaat, rijst de vraag of de cultures *K B 1* en *K B 2* geen cultures zijn van toevallig op de

aangetaste plant aanwezig geweest zijnde *Gloeosporium* species.

Tot nu toe is geen enkel geval bekend, dat planten van *Phaseolus vulgaris* L. aangetast werden door andere anthracnose zwammen dan *Colletotrichum Lindemuthianum*. Daarom dient hier te worden nagegaan of en in welke opzichten de cultures *K B 1* en *K B 2* met *Colletotrichum Lindemuthianum* overeenkomen.

Uit de op p. 34 vermelde tabel 7 blijkt, dat de cultures *K B 1* en *K B 2* beiden in de wijze, waarop haar groei door de temperatuur beïnvloed wordt, zeer sterk van *Colletotrichum Lindemuthianum* afwijken.

In de acervuli van cultuur *K B 2* werden nooit setae gevonden, dus cultuur *K B 2* moet tot het genus *Gloeosporium* gerekend worden. Bij cultuur *K B 1* is dit door het ontbreken van acervuli niet vast te stellen. Dit verschilpunt met *Colletotrichum Lindemuthianum* is echter van weinig waarde, daar de setae vorming bij *Colletotrichum Lindemuthianum* zeer variabel is (zie KRÜGER 1913).

Van meer belang is het verschil, dat er bestaat tusschen de cultures *K B 1* en *K B 2* en *Colletotrichum Lindemuthianum* in hun infectievermogen voor appels en tomaten (zie § 5).

Zoowel *K B 1* als *K B 2* kunnen deze vruchten aantasten en *Colletotrichum Lindemuthianum* kan dit niet.

Ten slotte werd nagegaan of er verschillen bestonden in spore-grootte tusschen de cultures *K B 1* en *K B 2* en *Colletotrichum Lindemuthianum*.

Tabel 12 geeft de resultaten van deze metingen en in tabel 13 zijn de verschillen weergegeven.

TABEL 12. *Lengte en breedte der conidien van de cultures K B 1 en K B en* Colletotrichum Lindemuthianum.

Cultuur.	Lengte in μ M. $\pm$ m.	Breedte in μ M. $\pm$ m.
K B 1.	17,85 $\pm$ 1,95	7,95 $\pm$ 0,05
K B 2.	11,93 $\pm$ 0,11	5,66 $\pm$ 0,004
Colletotr. Lindem. (stam *E*).	24,32 $\pm$ 0,16	9,90 $\pm$ 0,05

Uit tabel 13 blijkt, dat de cultures *K B 1* en *K B 2* ook wat betreft hun spore-grootte zeer van *Colletotrichum Lindemuthianum* verschillen. We kunnen dus uit al de genoemde verschil-

TABEL 13. *Verschillen in lengte en breedte tusschen conidien van de cultures* K B 1 *en* K B 2 *en* Colletotrichum Lindemuthianum.

Cultuur.	Lengte in μ $V \pm m_v$	Breedte in μ $V \pm m_v$
Colletotr. Lindem. K B 1.	6,45 ± 0,26	1,95 ± 0,08
„ „ K B 2.	12,38 ± 0,21	4,25 ± 0,06

punten concludeeren, dat de cultures *K B 1* en *K B 2* geen cultures van *Colletotrichum Lindemuthianum* zijn.

Waar bovendien de cultures *K B 1* en *K B 2* ieder ontstaan zijn uit één spore, afkomstig van een met cultuur *K* geïnfecteerde boonenplant moet aangenomen worden, dat de stammen *K B 1* en *K B 2* ontstaan zijn uit stam *K*.

Uit de volgende § blijkt, dat cultuur *K* wat betreft het infectievermogen voor appels en tomaten tot zekere hoogte overeenkomt met *Gloeosporium fructigenum* Berk.

EDGERTON (1914) heeft gevonden, dat een met *Gloeosporium fructigenum* identieke *Gloeosporium* species geïsoleerd van *Populus deltoïdes* splitste in 2 rassen. Een dezer rassen was in het geheel niet in staat peritheciën te vormen, het andere vormde abnormale peritheciën. EDGERTON noemt het niet-ascogene ras het —ras en het ascogene ras het + ras van de zwam.

Wanneer beide rassen te zamen gekweekt werden, ontstonden op de grenslijn der afzonderlijke kolonies talrijke en krachtig ontwikkelde peritheciën met normale asci.

Om na te gaan of de stammen *K B 1* en *K B 2* ook sexueele vormen van cultuur *K* waren, werden zij naast elkaar gekweekt op boonen- en op kersenagar. Op platen van deze voedingsbodems in Petrischalen werden eenige entingen gemaakt van cultuur *K B 1* en daar tusschen eenige overentingen van cultuur *K B 2* geplaatst. Het resultaat was, dat de kolonies van beide cultures zich normaal ontwikkelden. De kolonies groeiden door elkaar heen doch er werden geen perithecien gevormd.

Hieruit moet dus geconcludeerd worden, dat de cultures *K B 1* en *K B 2* geen sexueele vormen van cultuur *K* zijn.

De eenige mogelijkheid is, dat de cultures *K B 1* en *K B 2* als constante variaties (zie Deel II § 8) van cultuur *K* beschouwd worden.

Uit een hieronder beschreven waarneming blijkt, dat cultuur *K* tot plotseling veranderen in staat is.

Uit een kolonie van cultuur *K* werden 18 overentingen gemaakt op platen van kersenagar in Petrischalen. Drie van deze overentingen werden geplaatst bij ieder der volgende temperaturen: 5°, 10°, 15°, 20°, 25° en 30° C.

De bij 5°, 10°, 15°, 20° en 25° C. geplaatste cultures ontwikkelden zich normaal. De cultures, welke bij 30° geplaatst waren vormden echter volkomen wit mycelium, acervuli ontbraken. Slechts een enkele maal werden conidien aan myceliumdraden gevonden. In andere gevallen, waarbij cultuur *K* bij 30° C. gecultiveerd werd trad deze albino-vorm niet op; talrijke proeven ingezet met het doel ze nogmaals te verkrijgen leverden geen resultaat.

Van de witte vorm van cultuur *K* (in het vervolg als cultuur *K 30* aangeduid) werden overentingen gemaakt en geplaatst bij 5°, 10°, 15°, 20°, 25°, 30° en 35° C. De cultures bleven bij al deze temperaturen wit en ook de acervulus-vorming bleef achterwege.

Met cultuur *K 30* werden verwonde appels geïnfecteerd. Het resultaat van deze infecties was, dat cultuur *K 30* even sterk en even snel de appels aantastte als cultuur *K*. Tenslotte werd nog nagegaan de wijze, waarop de temperatuur de groeisnelheid van cultuur *K 30* beïnvloedde. De curve samengesteld uit de groeisnelheid van cultuur *K 30* bij verschillende temperaturen bleek geheel samen te vallen met die van cultuur *K*. Cultuur *K 30* is thans reeds 12 maanden in cultuur en tot nu toe is, na herhaalde overentingen geen terugslag naar cultuur *K* ontstaan.

In het hier beschreven geval is dus plotseling, onder invloed van een bepaalde temperatuur, uit cultuur *K* een nieuwe vorm ontstaan.

Het bleek, dat behalve een hooge temperatuur ook andere, nog onbekende, factoren stam *K 30* kunnen doen optreden.

Zoo ontstond zonder bekende oorzaak in een kolonie van stam *K B 1* een sector, welke geheel afweek van de rest der kolonie.

Deze afwijkende vorm werd geïsoleerd en bleek in morphologisch en physiologisch opzicht geheel overeen te komen met stam *K 30* (zie plaat 15).

Het was niet mogelijk tusschen de uit stam *K* en de uit stam *K B 1* ontstane vorm *K 30* eenig verschil te ontdekken. Het optreden van de vorm *K 30* in een cultuur van stam *K B 1* is er een sterke aanwijzing voor, dat stam *K B 1* een constant blijvende variatie van de oorspronkelijke stam *K* is.

Dat stam *K* in staat is b.v. door hooge temperatuur constante variaties te leveren maakt het te meer waarschijnlijk, dat de stammen *K B 1* en *K B 2* ook constante variaties van stam *K* zijn. In dit geval zou de passage door *Phaseolus vulgaris* L. de prikkel geweest kunnen zijn, waardoor deze vormen ontstonden.

Bovendien is bekend, dat in verscheidene verwante *Gloeosporium (Glomerella, Colletotrichum)* species vaak plotseling optreden en constant blijvende afwijkingen opleveren, hetwelk uit het volgende literatuur overzicht blijkt.

EDGERTON (1908) vermeldt het optreden van nieuwe, constant blijvende vormen in cultures van *Glomerella fructigena (Gloeosporium fructigenum)* afkomstig van appels.

SHEAR en WOOD (1913) vermelden het ontstaan van een afwijkende vorm in de 4de generatie van, telkens uit één ascospore voortgekweekte, *Glomerella cingulata,* afkomstig van *Persea gratissima.* Deze nieuwe vorm, welke zij nog 3 generaties uit één ascospore voortkweekten bleef constant.

DASTUR (1920) vermeldt het plotseling ontstaan van nieuwe vormen in cultures van *Glomerella cingulata (Gloeosporium piperatum)* afkomstig van *Capsicum annuum.*

BURGER (1921) vermeldt het optreden van afwijkingen in cultures van *Colletotrichum gloeosporioïdes.* De nieuwe vormen ontstonden als waaier- of wigvormige deelen in cultures van verschillende isolaties van de zwam en bleven na overenten bij voortgezette cultuur constant. Uit een één-spore cultuur, afkomstig van een zwart gekleurde kolonie ontstonden 2 vormen, respectievelijk met zwart en met wit mycelium. Bij overenten van mycelium bleef de witte vorm steeds wit, doch de zwarte leverde telkens weer sectoren van de vorm met wit mycelium. Conidien van witte cultures gaven steeds witte cultures, conidien van de oorspronkelijke zwarte vorm gaven zwart gekleurde cultures, waarin witte sectoren optraden.

DICKSON (1923) beschrijft het optreden van nieuwe vormen in cultures van *Gloeosporium atramentarium* (oorspronkelijk door hem (1922) als *Vermicularia varians* Ducomet beschreven), geïsoleerd van aardappel. In normaal sclerotien vormende cultures ontstonden sectoren welke of uitsluitend conidien produceerden of waarin eerst conidien en vervolgens onrijpe sclerotien gevormd werden. In een latere publicatie (1925 II) beschrijft DICKSON hoe de in 1923 ontstane conidien vormende cultuur na 35 generaties

nog steeds uitsluitend conidien vormde. Ook was in dien tijd de kleur der kolonies, welke van de normale afweek niet veranderd. Op levende planten werden echter weer wat sclerotien gevormd. Of cultures uit deze sclerotien de oorspronkelijke vorm of de variant leverden, wordt niet vermeld. Ook andere afwijkingen waren gedurende den tijd dat ze in cultuur waren (1—3 jaar) constant gebleven.

BEWLEY en SHEARN (1924) werkten met *Colletotrichum tabificum* (Hallier proparte) Pethybridge van tomaat, welke zij bevonden identiek te zijn met *Sclerotium selosum* Bewley en Shearn en *Vermicularia varians* Ducomet. Deze zwam is waarschijnlijk identiek met *Colletotrichum atramentarium,* (zie DICKSON 1925[1]), daar deze ook identiek was met *Vermicularia varians.* BEWLEY en SHEARN vonden ook afwijkingen in hun cultures optreden gelijk aan en geheel op dezelfde wijze als door DICKSON (1923) beschreven werd.

CHAUDHURI (1924) vermeldt, in cultures van *Gloeosporium biologicum* Chaudh. een plotseling ontstane, nieuwe vorm gevonden te hebben, welke van de oorspronkelijke cultuur afweek door het vormen van gekleurd mycelium en kleine sclerotien. Het verschil tusschen beide vormen trad alleen op bepaalde voedingsbodems op. De groeisnelheid van de nieuwe vorm bij verschillende temperaturen was geheel gelijk aan die van de oorspronkelijke. Na overenten van de nieuwe vorm op bepaalde voedingsbodems ging zij weer over in de oorspronkelijke vorm.

WELLENSIEK [1]) vond bij *Gloeosporium caulivorum,* afkomstig van klaver meerdere malen, dat in cultures afwijkende vormen spontaan ontstonden.

Talrijke soorten uit het geslacht *Gloeosporium* blijken dus een zeer groote variabiliteit te bezitten.

Het gedrag van de overentingen van cultuur *K B 1* komt in veel opzichten overeen met hetgeen BURGER (1921) vond bij *Gloeosporium gloeosporioides,* n.l. in cultures uit mycelium of conidien van de oorspronkelijke vorm ontstaat telkens weer naast de oorspronkelijke vorm de nieuwe vorm, terwijl cultures van mycelium of conidien van de nieuwe vorm steeds deze vorm weer opleveren. (Plaat 12.)

Uit de resultaten der proeven en uit de groote overeenkomst

---

[1]) Volgens mondelinge mededeeling over een nog niet gepubliceerd onderzoek.

met het gedrag van nauw verwante soorten kan geconcludeerd worden, dat het zeer waarschijnlijk is, dat uit cultuur *K* na passage door *Phaseolus vulgaris* L. 2 nieuwe vormen ontstaan zijn en dat deze nieuwe vormen geen verontreinigingen van cultuur *K* zijn.

§ 5. INFECTIEPROEVEN OP APPELEN EN TOMATEN.

EDGERTON (1915) vermeldt, dat hij tweemaal van aangetaste peulen van *Phaseolus vulgaris* een snelgroeiende *Gloeosporium* species geïsoleerd heeft, waarvan de groeicurve vrij groote overeenkomst vertoonde met die van *Gloeosporium fructigenum* Berkeley, de zwam, die het bitter-rot van appelen veroorzaakt (vgl. p. 28).

Daar de planten van *Phaseolus multiflorus*, waarvan de peul afkomstig was, waaruit stam *K* geïsoleerd werd, dicht bij en onder appelboomen groeiden en bovendien de groeicurve van stam *K* veel overeenkomt met die, welke EDGERTON van de op *Gloeosporium fructigenum* gelijkende en van boonen afkomstige, *Gloeosporium* species geeft, werd getracht uit te maken of stam *K* een vorm van *Gloeosporium fructigenum* is. Om dit vast te stellen werden infectieproeven gedaan op appelen en tomaten.

Bij de infectieproeven op appelen werd als volgt te werk gegaan. Geïnfecteerd werden geheel gave en verwonde appelen. In het eerste geval werd mycelium en conidien uit cultures op kersenagar gebracht op de schil der vruchten. In het tweede geval werd de verwonding op tweeërlei wijze aangebracht: bij de eene methode werd met een steriel mes een wigvormig stuk uit de appel gesneden, in de zoo ontstane holte mycelium en sporen gebracht en vervolgens de opening weer met het uitgesneden stuk appel gesloten; bij de andere infectiemethode werd met een steriel mes een snede, 1 c.m. lang en 1 m.m. diep, door de schil van de appel gemaakt en in de ontstane wond werd het infectie materiaal gebracht. Telkens werden 3 appels ieder op 3 plaatsen geïnfecteerd. Bij een deel der proeven werden tevens infecties verricht met de stammen *Z I*, *Z II*, *E* en *W* van *Colletotrichum Lindemuthianum*.

Tabel 14 p. 45, geeft de resultaten weer van de eerste serie infectieproeven.

Uit de resultaten van proef I blijkt, dat cultuur *K*, wat betreft het infectievermogen voor appelen, geheel verschilt van de onder-

zochte stammen van *Colletotrichum Lindemuthianum*, welke geen appels kan aantasten. (Zie plaat 9.)

TABEL 14. *Resultaten van infectieproef I op appels.*

Appel variëteit: Herfstbloemzoet (zoet).
Geïnfecteerd: 7 November 1925.

Geïnfecteerd met:	Gecontroleerd na:	Resultaat der infectie.	
		Verwond.	Niet verwond.
Cultuur *K*	3 dagen.	(Rotte plek 5 mM. breed)	—
„ „	5 „	„ „ 1 cM. „	—
„ „	7 „	„ „ 1,5 „ „ Begin van acervulusvorming.	—
„ „	13 „	(Vruchten geheel verrot. Talrijke pseudopycniden- en acervuli; enkele pycniden op de schil).	—
Colletotrichum Lindemuthianum, Stam *Z I*, *Z II*, *E* en *W*.	3, 5, 7, 13, 16 en 23 dagen.	—	—

Appel variëteit: Minister von Hammerstein (zuur).
Geïnfecteerd: 7 November 1925.

Geïnfecteerd met:	Gecontroleerd na:	Resultaat der infectie.	
		Verwond.	Niet verwond.
Cultuur *K*	3 dagen.	—	—
„ „	5 „	Rotte plek 1 mM. breed	—
„ „	7 „	„ „ 4 „ „	—
„ „	13 „	„ „ 1 cM. „	—
„ „	16 „	Rotte plek 2 cM. breed en tot aan het klokhuis naar binnen doorgedrongen.	—
„ „	23 „	Vruchten geheel verrot; enkele pseudopycniden en acervuli op de schil.	—
Colletotrichum Lindemuthianum, Stam *Z I*. *Z II*, *E* en *W*.	3, 5 7, 13, 16 en 23 dagen.	—	—

Verder blijkt, dat alleen stam *K* in staat is verwonde appelen aan te tasten. De variëteit Herfstbloemzoet werd veel sneller aangetast dan de variëteit Minister von Hammerstein, terwijl op de eerstgenoemde variëteit eerder en meer conidiën gevormd werden dan op de tweede. Tusschen deze beide appel-variëteiten bestaat dus een verschil in vatbaarheid.

De methode van verwonding had geen invloed op het resultaat der infectie.

Uit de na infectie met cultuur *K* verrotte appelen kon de zwam steeds gereïsoleerd worden op plaatsen enkele c.m. van de infectieplaats verwijderd.

De aantasting verliep als volgt. Spoedig na de infectie ontstond een bruine verkleuring rondom de infectieplaats, welke zich spoedig in het inwendige der vruchten voortzette. Bij inbrenging van door verhitting gedood infectiemateriaal in de wonde ontstond slechts een zeer oppervlakkige verkleuring. Vooral bij de betrekkelijk langzaam voortschrijdende aantasting op de variëteit Minister von Hammerstein bleek, dat bij geringe zijdelingsche uitbreiding de zwam vrij snel in de richting van het klokhuis doordrong. De verrotte deelen hadden een kegelvormige gedaante, met de infectieplaats als basis en de top in het klokhuis. Wanneer de top van het aangetaste deel der vruchten het klokhuis ongeveer bereikt had, begon de schil rondom de infectieplaats een geringe inzinking te vertoonen en te gelijker tijd verschenen op de schil kleine verhevenheden, die later zeer veel pseudopycniden bleken te bevatten. Een enkele maal doorbraken deze pseudopycniden de vruchtwand en er ontstond na de vorming van een nieuw stroma op den top van de pseudopycnide een acervulus.

In dit stadium van aantasting werd de schil der appelen soms met een zeer dunne laag zwarte mycelium bedekt, terwijl sporadisch echte pycniden gevormd werden.

Sterk verrotte appelen toonden groote neiging tot mummificeeren.

De hier beschreven aantasting komt geheel overeen met de door KRÜGER (1913, p. 238 en p. 249) gegeven beschrijving van de aantasting van appelen door *Gloeosporium fructigenum* forma *germanica* Kr.

Een tweede serie infecties op de variëteit Minister von Hammerstein werd gedaan met de oorspronkelijke cultuur *K* en met

een cultuur, geïsoleerd uit door stam *K* ziek gemaakte appelen van dezelfde variëteit, welke cultuur in het vervolg met den naam: *„stam K A"* aangeduid zal worden.

Verder werden nog infecties verricht met de stammen *K B 1* en *K B 2*, welke geïsoleerd waren uit een met stam *K* geïnfecteerde plant van *Phaseolus vulgaris* (zie p. 36).

Ter bepaling van eventueele identiteit van stam *K* met *Gloeosporium fructigenum* werden infecties verricht met *Gloeosporium fructigenum* forma *germanica* Krüger en *Gloeosporium fructigenum* forma *americana* Krüger, welke door het Centraal Bureau voor Schimmelcultures te Baarn welwillend ter onzer beschikking werden gesteld. Deze cultures waren overentingen van door KRÜGER in 1913 respectievelijk van appel en van banaan geïsoleerde cultures.

In onderstaande tabellen zijn deze beide cultures aangeduid als *Gl. fr.* f. *g.* en *Gl. fr.* f. *a.*

In tabel 15 (p. 48 en 49) zijn resultaten van infectie proef II op appelen samengevat. In deze tabel zijn de gelukte infecties aangegeven door een breuk, waarvan de noemer het aantal verrichte, de teller het aantal geslaagde infecties aanduidt.

Alvorens de resultaten van infectie proef II op appelen te bespreken, willen wij de resultaten van een infectie proef op tomaten vermelden, daar de uitkomsten van deze beide proefseries in veel opzichten met elkaar overeen komen.

De infecties op tomaten werden verricht op volgroeide, nog groene, vruchten. [1]) Zoowel verwonde als niet verwonde vruchten werden geïnfecteerd. Bij de verwonde tomaten werd mycelium en conidien gebracht in een snijwond, lang 1 cm. en diep 1 mm., gemaakt met een steriel mes.

De geïnfecteerde vruchten werden in glasdoozen bewaard, waarin een vrij groote luchtvochtigheid heerschte, verkregen door het inleggen van strooken nat filtreerpapier.

In tabel 16 p. 50 zijn de resultaten van deze infectieproef vermeld. Evenals in tabel 15 zijn de gelukte infecties aangegeven door een breuk, met tot teller het aantal geslaagde en tot noemer het aantal verrichte infecties.

Steeds werden met iedere cultuur 3 verwonde en 3 niet verwonde vruchten geïnfecteerd, terwijl op iedere vrucht 3 infecties werden verricht.

---

[1]) Deze kleurden zich in 2 dagen na het begin der proef normaal rood.

TABEL 15. *Resultaten van infectieproef II op appelen.*

Appelvariëteit: Minister von Hammerstein.

Geïnfecteerd: 5 November 1925.

Geïnfecteerd met:	Gecontrôleerd na: (Noted after.)	Verwond. (Wounded.) Aantal appelen.	Verwond. (Wounded.) Resultaat der infectie. (Result of the inoculation.)	Verwond. (Wounded.) Opmerkingen.	Niet verwond. (Unwounded.) Aantal appelen.	Niet verwond. (Unwounded.) Resultaat der infectie.
Cultuur *K* . .	1 dag	9	—	—	3	—
„ *K* . .	3 dagen	9	—	—	3	—
„ *K* . .	6 „	9	8/9	rotte plek 2 mM. breed	3	—
„ *K* . .	9 „	9	9/9	rotte plek 8 mM. breed	3	—
„ *K* . .	14 „	9	9/9	rotte plek 1,6 cM. breed	3	—
„ *K* . .	18 „	9	9/9	rotte plek 2,5 cM. breed	3	—
Cultuur *KA* .	1 dag	9	5/9	rotte plek 2 mM. breed	3	—
„ *KA* .	3 dagen	9	8/9	rotte plek 4 mM. breed	3	—
„ *KA* .	6 „	9	9/9	rotte plek 8 mM. breed	3	—
„ *KA* .	9 „	9	9/9	rotte plek 1,3 cM. breed	3	—
„ *KA* .	14 „	9	9/9	rotte plek 2 cM. breed	3	—
„ *KA* .	18 „	9	9/9	appels geheel rot.	3	—
Cultuur *KB 1*.	1 dag	9	—	—	3	—
„ *KB 1*.	3 dagen	9	—	—	3	—
„ *KB 1*.	6 „	9	3/9	rotte plek 1 mM. breed	3	—
„ *KB 1*.	9 „	9	7/9	rotte plek 2 mM. breed	3	—
„ *KB 1*.	14 „	9	9/9	rotte plek 4 mM. breed	3	—
„ *KB 1*.	18 „	9	9/9	rotte plek 8 mM. breed	3	—

Geïnfecteerd met:	Gecontrôleerd na: (Noted after:)	Verwond. (Wounded.) Aantal appelen.	Verwond. (Wounded.) Resultaat der infectie. (Result of the insculation.)	Verwond. (Wounded.) Opmerkingen.	Niet verwond. (Unwounded.) Aantal appelen.	Niet verwond. (Unwounded.) Resultaat der infectie.
Cultuur *K B 2.*	1 dag	9	—	—	3	—
„ *K B 2.*	3 dagen	9	—	—	3	—
„ *K B 2.*	6 „	9	—	—	3	—
„ *K B 2.*	9 „	9	—	—	3	—
„ *K B 2.*	14 „	9	—	—	3	—
„ *K B 2.*	18 „ [1]	9	8/9	spoor van aantasting.	3	—
„ *K B 2.*	26 „	9	9/9	geringe aantasting.	3	—
„ *K B 2.*	30 „	9	9/9	appels geheel verrot.	3	—
Gl. fr. f. g.	1 dag	9	—	—	3	—
Gl. fr. f. g.	3 dagen	9	—	—	3	—
Gl. fr. f. g.	6 „	9	3/9	geringe aantasting.	3	—
Gl. fr. f. g.	9 „	9	4/9	aantasting 4 mM. breed.	3	—
Gl. fr. f. g.	14 „	9	7/9	aantasting 1 cM. breed.	3	—
Gl. fr. f. g.	18 „	9	9/9	aantasting 2,8 cM. breed.	3	—
Gl. fr. f. a.	1 dag	9	—	—	3	—
Gl. fr. f. a.	3 dagen	9	—	niet geheel zeker.	3	—
Gl. fr. f. a.	6 „	9	8/9	rotte plek 3 mM. breed.	3	—
Gl. fr. f. a.	9 „	9	9/9	rotte plek 7 mM. breed.	3	—
Gl. fr. f. a.	14 „	9	9/9	rotte plek 1,5 cM. breed.	3	—
Gl. fr. f. a.	18 „	9	9/9	rotte plek 2,5 cM. breed.	3	—

[1]) Vruchten overrijp.

Na 44 dagen (16 December 1925) werd getracht de zwam uit het inwendige van alle op dat tijdstip aangetaste vruchten en uit een deel der niet aangetaste vruchten weder te isoleeren. Uit de zaadholte der aangetaste tomaten kon steeds en uit het placentaweefsel kon meestal de betreffende zwam weder geïsoleerd worden.

In de beide laatste kolommen van tabel 16 is aangegeven of de na 16 December 1925 van enkele infectieproeven overgebleven vruchten na dien datum nog aangetast werden. In de tweede kolom van tabel 16 is door de letters V. en N.V. aangegeven of de vruchten voor de infectie verwond, respectievelijk niet verwond waren geworden.

Naast het aantal geslaagde infecties is in onderstaande tabel aangegeven de mate van aantasting. De letters s, m en z geven aan, dat de aantasting respectievelijk sterk, matig sterk of zwak was.

TABEL 16. *Infectieproeven op tomaten. (Plaat 10 en 11).*
Geïnfecteerd 10 November 1925.

Geïnfecteerd met:	Vruchten al dan niet verwond.	Resultaat der infecties op:									
		12 Nov. 1925.	14 Nov. 1925.	15 Nov. 1925.	19 Nov. 1925.	24 Nov. 1925.	4 Dec. 1925.	9 Dec. 1925.	16 Dec. 1925.	28 Dec. 1925.	8 Jan. 1926.
Cultuur *K.* . .	V (= wounded)	9/9*m*	9/9*s*	9/9*s*	9/9*s*	9/9*s*	9/9*s*	9/9*s*	9/9*s*	—	—
„ *K.* . .	N V (= unwounded)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2/3*z*
„ *K A* .	V	9/9*s*	9/9*s*	9/9*s*	9/9*s*	9/9*s*	9/9*s*	9/9*s*	9/9*s*	—	—
„ *K A* .	N V	—	5/7*m*	7/7*s*	7/7*s*	7/7*s*	7/7*s*	7/7*s*	7/7*s*	—	—
„ *K B1* .	V	—	—	—	9/9*z*	9/9*z*	9/9*m*	9/9*m*	9/9*s*	—	—
„ *K B1* .	N V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1?/3
„ *K B2* .	V	—	—	—	—	—	2/9*z*	2/9*z*	2/9*z*	1/6	2/6
„ *K B2* .	N V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1/3
Gl. fr. f. a. . .	V	—	—	—	2/9*m*	5/9*m*	7/9*s*	7/9*s*	9/9*s*	—	—
Gl. fr. f. a. . .	N V	—	—	—	—	—	—	1/9*m*	1/9*m*	—	—
Gl. fr. f. g. . .	V	—	—	—	—	—	3/9*z*	4/9*z*	4/9*z*	—	3/3*s*
Gl. fr. f. g. . .	N V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1/9
Colletotrichum Lindemuthianum: Stam *Z I.*	V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3/3*z*
„ *Z I.*	N V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3/6*z*
„ *Z II*	V	—	—	—	—	—	—	—	—	6/6*z*	—
„ *Z II*	N V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ *E* .	V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ *E* .	N V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ *W*.	V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2/9*z*
„ *W*.	N V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1/9*z*

Thans willen wij de resultaten van infectieproef II op appelen en van de infectieproef op tomaten met elkaar vergelijken.

Uit tabel 14 (p. 45) en 15 p. 48 en 49) blijkt, dat het na infectie van de appel variëteit Minister von Hammerstein met stam *K* 5—6 dagen duurt eer een begin van aantasting merkbaar wordt. Bij infectie met cultuur *K A* (zie tabel 14) is de aantasting reeds na 1 dag merkbaar en bovendien verloopt deze sneller dan bij infectie met cultuur *K*. Uit deze resultaten kan geconcludeerd worden, dat de virulentie van stam *K* voor appel na passage door appel toegenomen is.

Uit tabel 16 (p. 50) blijkt, dat ook de virulentie van stam *K* voor tomaat toegenomen is door passage door appel. De oorspronkelijke stam *K* is alleen in staat verwonde tomaten aan te tasten, terwijl cultuur *K A* ook geheel gave vruchten kan aantasten, zij het dan ook, dat de aantasting iets langzamer verloopt dan op verwonde tomaten.

Cultuur *K A* treedt dus op als een gewone parasiet, terwijl stam *K* als wondparasiet beschouwd moet worden (zie plaat 10). Dit is wel een zeer belangrijke verandering, welke er het gevolg van moet zijn, dat passage door appel cultuur *K* zeer in virulentie deed toenemen.

Waar cultuur *K A* in dit opzicht zoo sterk van cultuur *K* afweek, was het van belang na te gaan of cultuur *K A* ook in andere kenmerken van cultuur *K* verschilde.

Cultures van *K A* op kersenagar waren over het algemeen donkerder gekleurd dan die van de stam *K*. Waar echter de kleurintensiteit van de schimmel kolonies zeer variabel is, kan dit geringe verschil niet als een reëel onderscheid tusschen de cultures *K* en *K A* beschouwd worden.

Verder werd onderzocht of de groeisnelheid van cultuur *K A* op andere wijze door de temperatuur beïnvloed werd dan die van cultuur *K*.

In tabel 7 (p. 34) zijn de resultaten van deze proef weergegeven. Hieruit blijkt, dat cultuur *K A* in dit opzicht niet van cultuur *K* verschilt. De verschillen liggen binnen de foutengrens van de proef.

Voorts werd nagegaan de afmeting der sporen van beide cultures. Van iedere cultuur werden 500 sporen uit acervuli gemeten. De resultaten van dit onderzoek zijn neergelegd in tabel 17, p. 52.

Uit tabel 17 blijkt, dat tusschen de sporen van de cultures *K* en *K A* geen reëele verschillen in lengte en breedte bestaan. Uit het bovenstaande kunnen we concludeeren, dat passage door

TABEL 17. *Afmeting der conidien van de cultures K en K A.*

Cultuur.	Aantal sporen.	Lengte in μ $M \pm m_v$.	Breedte in μ $M \pm m_v$.
K	500	9,67 ± 0,06	5,69 ± 0,03
K A.	500	9,60 ± 0,06	5,55 ± 0,02
		$V \pm m_v$	$V \pm m_v$
K — K A		0,07 ± 0,10	0.14 ± 0,04

appel de virulentie van cultuur *K* sterk heeft doen toenemen, doch, dat de overige eigenschappen hierdoor niet beïnvloed zijn.

Gaan we thans na de wijze, waarop de, na passage door *Phaseolus vulgaris*, uit cultuur *K* ontstane vormen *K B 1* en *K B 2* zich bij infectie op appels en tomaten gedragen. Zoowel uit de resultaten van de infectieproef II op appelen en van de infecties op tomaten blijkt, dat de virulentie van de cultures *K B 1* en *K B 2* veel minder is dan die van cultuur *K*, terwijl die van cultuur *K B 1* weer grooter is dan die van cultuur *K B 2* (zie plaat 10). Cultuur *K B 2* tast pas na zeer langen tijd de vruchten aan. Hierbij moeten we er rekening mede houden, dat zoowel de appels als de tomaten na de lange bewaring in vrij vochtige lucht zeer rijp geworden waren, zoodat het zeer wel mogelijk is, dat de groei van de schimmel na de lange bewaarperiode eerder saprophytisch dan parasitisch is. Dit blijkt ook wel uit de resultaten vermeld in de beide laatste kolommen van tabel 16: verschillende cultures, die eerst noch verwonde noch onverwonde vruchten vermochten aan te tasten, waren ten slotte na bijna 2 maanden op de vruchten aanwezig te zijn geweest in staat een aantasting teweeg te brengen.

We kunnen dus hier concludeeren, dat door het groeien van cultuur *K* op *Phaseolus vulgaris* de virulentie voor appels en tomaten in sterke mate is afgenomen. In de vorige § werd tevens aangetoond, dat ook de sporegrootte en de wijze waarop de groei van de zwam door de temperatuur beïnvloed wordt, sterk veranderd is geworden.

Het verloop van de aantasting door de verschillende stammen was zeer verschillend. Bij aantasting door de stammen *K* en *K A* ontstond 1 à 2 dagen na de infectie een bruingekleurde, niet scherp begrensde inzinking, welke 1 dag later geheel met lucht-

mycelium bedekt was. Dit luchtmycelium was bij de infecties met stam *K* wit en werd na enkele dagen grauw-zwart, bij de infecties met stam *K A* was de kleur van het luchtmycelium van het begin af grauw. Bij infectie met stam *K A* verliep de aantasting veel sneller dan bij infectie met stam *K*.

Rondom de met mycelium overdekte plek was de schil bruinrood verkleurd. Deze kleur was ook, nadat de op het tijdstip der infectie nog groene vruchten rood geworden waren, duidelijk van het lichtere tomatenrood te onderscheiden (zie pl. 10). De breedte van de verkleurde zône bedroeg 0,5—1 cm.

In het luchtmycelium ontstonden op enkele plaatsen grijs-rose sporodochiën. Na ± 10 dagen ontstonden acervuli en pseudopycniden direct op den schil der aangetaste vruchten.

Bij ver voortgeschreden aantasting ontstonden in den schil van het aangetaste gedeelte scheuren; ook bij door stam *K A* aangetaste, onverwonde tomaten (zie plaat 10). Wellicht hangt dit samen met de neiging van de aangetaste vruchten om ineen te schrompelen. Vaak mummificeerden de aangetaste vruchten op den duur geheel.

In het inwendige der vruchten bleken de zaadholten en het placentaweefsel geheel met mycelium doorgroeid. Bij kiemproeven met zaden uit aangetaste vruchten bleek, dat uit dit zaad normale kiemplanten zich ontwikkelden.

Bij infectie met stam *K B 1* was de aantasting pas na 9 dagen waarneembaar. De ingezonken aangetaste plekken waren scherpbegrensd en daarbuiten was de schil slechts weinig verkleurd.

Op de ingezonken gedeelten ontwikkelde zich een weinig witgekleurd luchtmycelium; een enkele maal werden wit-rose acervuli waargenomen.

Ongeveer drie weken na de infectie (de vruchten waren ondertusschen zeer rijp geworden) breidde de aantasting zich sterk uit; de begrenzing van de ingezonken gedeelten werd minder scherp en er ontwikkelde zich veel wit luchtmycelium.

De aantasting door sam *K B 2* werd pas 23 dagen na de infectie waarneembaar bij een deel der vruchten. De aantasting verliep overigens op dezelfde wijze als die door stam *K B 1*.

Uit tabel 16 blijkt, dat de cultures van *Colletotrichum Lindemuthianum* niet in staat zijn (behalve de geringe uitzonderingen op zeer oude vruchten) tomaten aan te tasten.

Hierdoor wordt weder aangetoond, dat cultuur *K* niet als een vorm van *Colletotrichum Lindemuthianum* beschouwd mag worden.

Wanneer we tenslotte nagaan de resultaten, verkregen bij infectie van appels en tomaten met cultures van *Gloeosporium fructigenum* f. *americana* Kr. en *Gloeosporium fructigenum* f. *germanica* Kr., dan zien we, dat op beide vruchtsoorten de eerste eerder en sterker aantasting teweeg gebracht heeft dan de tweede.

Op appels was de aantasting door *Gloeosporium fructigenum* f. *americana* ongeveer gelijk aan die van cultuur *K*, op tomaten was de aantasting door *Gloeosporium fructigenum* f. *americana* minder snel en minder sterk dan door cultuur *K*. Zoowel voor tomaten als appels was *Gloeosporium fructigenum* f. *germanica* minder virulent dan cultuur *K*. Toch mag hieruit nog niet geconcludeerd worden, dat stam *K* niet identiek is met *Gloeosporium fructigenum* f. *americana* of met *Gloeosporium fructigenum f. germanica*. De cultures toch, die voor de vergelijkende infectieproeven gebezigd werden, waren reeds gedurende 12 jaar in het Centraal Bureau voor Schimmelcultures te Baarn gekweekt en er bestaat daarom geen zekerheid, dat deze cultures nog dezelfde eigenschappen bezitten als de door KRÜGER (1913) beschreven vormen. Dat met de kans op verandering van eigenschappen rekening gehouden moet worden, blijkt hieruit, dat volgens KRÜGER *Gloeosporium fructigenum* forma *germanica* (afkomstig van appel) en *Gloeosporium fructigenum* forma *americana* (afkomstig van banaan) in staat zijn, verwonde tomaten zeer snel en niet verwonde tomaten wat langzamer aan te tasten, terwijl bij onze infectieproeven met genoemde vormen de aantasting der verwonde tomaten matig sterk was en langzaam verliep en bij de infectie van niet verwonde tomaten slechts een enkele maal, en dan nog zeer zwak, aantasting optrad.

Om dus te kunnen uitmaken of stam *K* een vorm van *Gloeosporium fructigenum* is, is het gewenscht het resultaat van de infectieproeven te vergelijken met de resultaten van KRÜGER (1913), daar deze de meest gedetailleerde beschrijving geeft van de beide vormen van *Gloeosporium fructigenum*.

Volgens KRÜGER tasten zoowel *Gl. fr.* f. *americana* (van banaan) als *Gl. fr.* f. *germanica* verwonde appelen aan. Bij infectie door *Gl. fr.* f. *germanica* dringt de aantasting snel en kegelvormig in het inwendige der vruchten door, terwijl bij infectie door *Gl. fr.*

f. *americana* de aantasting meer oppervlakkig blijft. *Gl. fr.* f. *americana* (van banaan) tast niet-verwonde appelen in het geheel niet aan, terwijl *Gl. fr.* f. *germanica* verwonde appelen aantast op geheel gelijke wijze als onze stam *K* (zie p. 52 en 53).

Gl. fr. f. *germanica* tast volgens KRÜGER zoowel verwonde als niet verwonde tomaten sterk aan, terwijl *Gl. fr.* f. *americana* (van banaan) alleen in staat is verwonde tomaten te infecteeren. Bij onze proeven vonden wij, dat stam *K* alleen verwonde en stam *K A* zoowel verwonde als gave tomaten kan aantasten. Uit deze feiten blijkt, dat stam *K* niet identiek is met *Gloeosporium fructigenum* f. *americana* Kr., doch in veel opzichten overeenkomt met *Gloeosporium fructigenum* forma *germanica* Kr. In § 7 zal de vraag of stam *K* met *Gl. fr. f. germanica* identiek is nader besproken worden.

In het voorgaande is beschreven hoe passage door appel de virulentie van stam *K* voor appelen en tomaten in belangrijke mate heeft doen toenemen.

Om na te gaan of ook passage door tomaat van de stammen *K, K A, K B 1, K B 2* en van *Gloeosporium fructigenum* forma *germanica* en *Gloeosporium fructigenum* forma *americana* de virulentie van deze stammen voor appels deed veranderen, werden infectieproeven genomen op de appelvariëteit Dubbele Brabantsche Bellefleur met isolaties van de bovengenoemde stammen uit de aangetaste tomaten van de in het bovenstaande beschreven infectieproef op deze vruchten.

Ook werden ter contrôle van de resultaten van infectieproef II op appelen een serie infecties gemaakt met cultures van de stammen *K, K A, K B 1* en *K B 2* en *Gloeosporium fructigenum* forma *americana* en *Gloeosporium fructigenum* forma *germanica* geïsoleerd uit met deze stammen geïnfecteerde vruchten van de appelvariëteit Minister von Hammerstein.

De resultaten van deze beide reeksen infectieproeven zijn samengevat in tabel 18, p. 56.

Wanneer we met elkaar vergelijken de resultaten, verkregen bij de infectie met de stammen *K, K A, K B 1* en *K B 2* en *Gloeosporium fructigenum* f. *germanica* en *Gloeosporium fructigenum* f. *americana* van de appelvariëteit Minister von Hammerstein (tabel 15, p. 48 en 49) met die van de infectie met de oorspronkelijke cultures op de variëteit Dubbele Brabantsche Bellefleur (tabel 18), dan blijkt, dat op deze laatste variëteit de aan-

TABEL 18. *Infectieproef III op appelen.*

Variëteit: Dubbele Brabantsche Bellefleur.
Geïnfecteerd: 23-12-'25.

Schimmelcultuur.	Geïsoleerd uit	Appelen al dan niet verwond.	Resultaat van de infectie na: 5 dagen.	9 dagen.	12 dagen.
Oorspronkelijke cultuur *K* . . .	—	V	0/4	0/4	4/4
id. . . .	—	N V	0/6	0/6	0/6
Cultuur *K*	appel	V	3/4	3/4	4/4
id.	,,	N V	0/6	0/6	0/6
id.	tomaat	V	2/4	4/4	4/4
id.	,,	N V	0/6	0/6	0/6
Oorspronkelijke cultuur *K A*. . .	—	V	3/4	4/4	4/4
id. . .	—	N V	0/7	0/7	0/7
Cultuur *K A*	appel	V	4/4	4/4	4/4
id.	,,	N V	0/7	0/7	0/7
id.	tomaat	V	6/8	8/8	8/8
id.	,,	N V	0/12	0/12	0/12
Oorspronkelijke cultuur *K B* 1 . .	—	V	0/5	1/5	1/5
id. . .	—	N V	0/7	0/7	0/7
Cultuur *K B* 1	appel	V	0/4	2/4	3/4
id.	,,	N V	0/6	0/6	0/6
id.	tomaat	V	0/8	0/8	1/8
id.	,,	N V	0/13	0/13	0/13
Oorspronkelijke cultuur *K B* 2 . .	—	V	0/4	0/4	1/4
id. . .	—	N V	0/5	0/5	0/5
Cultuur *K B* 2	appel	V	0/4	1/4	1/4
id.	,,	N V	0/5	0/5	0/5
id.	tomaat	V	0/4	1/4?	1/4
id.	,,	N V	0/7	0/7	0/7
Oorspronkelijke cultuur *Gl. fr.* f. *a.*	—	V	0/4	3/4	4/4
id.	—	N V	0/4	0/4	0/4
Cultuur *Gl. fr.* f. *a.*	appel	V	0/4	1/4	3/4
id.	,,	N V	0/6	0/6	0/6
id.	tomaat	V	0/4	2/4	4/4
id.	,,	N V	0/6	0/6	0/6
Oorspronkelijke cultuur *Gl. fr.* f. *g.*	—	V	0/4	2/4	2/4
id.	—	N V	0/7	0/7	0/7
Cultuur *Gl. fr.* f. *g.*	appel	V	0/4	2/4	3/4
id.	,,	N V	0/6	0/6	0/6
id.	tomaat	V	0/4	3/4	3/4
id.	,,	N V	0/6	0/6	0/6

tasting door de cultures *K* en *Gloeosporium fructigenum* f. *germanica* langzamer verliep dan op de variëteit Minister von Hammerstein, terwijl voor de overige stammen de snelheid, waarmede de aantasting plaats had, ongeveer gelijk was. De variëteit Dubbele Brabantsche Bellefleur schijnt dus iets minder vatbaar te zijn dan de variëteit Minister von Hammerstein.

Uit tabel 18 blijkt:

1°. dat passage van stam *K* zoowel door appel als door tomaat de virulentie van stam *K* voor appelen heeft doen toenemen en dat de toename in beide gevallen even sterk is;

2°. dat passage van de stammen *K A* en *K B 1* door appel de virulentie een weinig heeft doen toenemen, doch, dat passage door tomaat geen verandering in virulentie ten gevolge heeft gehad;

3°. dat passage van stam *K B 2* en van *Gloeosporium fructigenum* forma *americana* en *Gloeosporium fructigenum* forma *germanica* door appel en tomaat de virulentie van deze zwammen practisch niet veranderd heeft.

De resultaten, verkregen met stam *K*, bevestigen geheel die, welke bij de infectieproef II (tabel 15) verkregen zijn; de passage door appelen heeft dus grooten invloed op de virulentie van stam *K* en uit tabel 18 blijkt, dat passage door tomaat dezelfde verandering teweeg kan brengen. Uit de resultaten verkregen met de stammen *K A* en *K B 1*, kan geconcludeerd worden, dat de beïnvloeding van de virulentie door appel sterker is dan die door tomaat.

Opmerkelijk is het, dat de beïnvloeding van de virulentie van stam *K* door de passage door vruchten veel sterker is dan die van de stammen *K B 1* en *K B 2*. De wijziging, welke de passage van stam *K* door *Phaseolus vulgaris* ten gevolge heeft gehad en waardoor de stammen *K B 1* en *K B 2* ontstaan zijn, is dus zeer vast geïnduceerd. Op dit feit zal in § 8 nader worden ingegaan.

Van *Gloeosporium fructigenum* forma *americana* en *Gloeosporium fructigenum forma germanica* is de virulentie veel minder varieerbaar dan van stam *K*.

§ 6. VERDERE INFECTIEPROEVEN OP *PHASEOLUS VULGARIS* L.

Uit de resultaten van de infectieproeven op appels en tomaten bleek, dat de virulentie van stam *K* voor deze vruchten, na eenmaal door appel gepasseerd te zijn, belangrijk toegenomen was.

In verband met deze variabiliteit van virulentie ten opzichte van appels en tomaten, was het van belang om na te gaan, of ook de virulentie van stam *K* voor *Phaseolus vulgaris*, na één keer op dit boonenspecies gekweekt geweest te zijn, veranderd was. In het voorgaande werd reeds medegedeeld, dat na passage van stam *K* door *Phaseolus vulgaris* 2 nieuwe vormen ontstonden: de stammen *K B 1* en *K B 2*, welke in morphologisch opzicht sterk van de oorspronkelijke stam *K* afweken.

Door infectieproeven werd nagegaan of naast deze morphologische veranderingen ook wijzigingen in de virulentie opgetreden waren.

Ook werd onderzocht of de virulentie van stam *K A*, welke meer virulent geworden was voor vruchten dan stam *K* (zie § 5), afweek van die van stam *K* ten opzichte van boonenplanten.

Ter vergelijking werden tevens infectieproeven verricht met *Gloeosporium fructigenum* f. *americana* Kr. en *Gloeosporium fructigenum* f. *germanica* Kr.

Infectieproeven met genoemde cultures werden verricht op een twaalftal boonenvariëteiten en de resultaten hiervan zijn bijeengebracht in tabel 19 (p. 59). Van iedere variëteit werden 15 planten geïnfecteerd. Tevens is in deze tabel aangegeven het resultaat van een vroegere reeks infectieproeven met stam *K* (zie tabel 8, p. 35).

Uit tabel 19 blijkt:

1°. dat de resultaten van beide reeksen infecties met stam *K* goed overeenstemmen;

2°. dat weinig verschil in virulentie bestaat tusschen *Gloeosporium fructigenum* f. *germanica* Kr. en stam *K*;

3°. dat *Gloeosporium fructigenum* f. *americana* Kr. en stam *K A* ongeveer evensterke aantasting veroorzaken, welke een weinig sterker is dan die door stam *K*;

4°. dat de aantasting door stam *K B 1* vrijwel geheel gelijk is aan die, welke door stam *K* (2de reeks) veroorzaakt geworden is. Slechts de variëteiten Navy, Minn. 1083 en Brown Swedish, Minn. 132 worden door stam *K B 1* iets meer aangetast dan door stam *K*;

5°. dat bij infectie met stam *K B 2* zich een opmerkelijk verschil openbaart tusschen de door LEACH gezonden boonenvarië-

TABEL 19. *Infectieproeven op* Phaseolus vulgaris L. *(Plaat 13 en 14.)*

No.	Boonenvariëteiten.	Aantastingsgraad van de planten geïnfecteerd met stam:						
		1ste reeks *K*	2de reeks *K*	*Gl. fr. f. g.*	*Gl. fr. f. a.*	*K A*	*K B 1*	*K B 2*
1	Ruby Horticultural, Minn. 98	*g* [1])	*g—z.l.*	*g*	*z.l.—l* [1])	*z.l.*	*g*	*g*
2	Red Indian, Minn. 1101 . .	*g*	*g—(l)* [1])	*g—z.l.*	*z.l.—(l)*	*z.l.*	*g—(l)*	*z.l.—(l)*
3	Navy, Minn. 1083.	*g*	*g*	*g—z.l.*	*g—z.l.*	*z.l.*	*z.l.—l*	*z.l.—(l)*
4	Brown Swedish, Minn. 132 .	*g*	*g*	*g*	*z.l.*	*z.l.*	*g—z.l.*	*g—z.l.*
5	Red Kidney, Minn.	*z.l.* [1])	*g—z.l.*	*g*	*z.l.*	*g—z.l.*	*g—z.l.*	*z.l.—(l)*
6	Navy, Minn. 69	*g*	*g—(l)*	*g*	*z.l.*	*g—z.l.*	*g*	*g*
7	Well's Red Kidney	*z.l.*	*z.l.—l*	*z.l.*	*z.l.*	*z.l. (l)*	*z.l.*	*st.—d* [1])
8	White Imperial	*z.l.*	*z.l.—(l)*	*z.l.*	*z.l.—l*	*z.l.*	*z.l.*	*st*
9	Burpee White Wax.	*z.l.*	*z.l.*	*z.l.*	*z.l.*	*z.l.*	*z.l.*	*m* [1])
10	Extra Early Refugee . . .	*z.l.*	*z.l.—l*	*z.l.—l*	*z.l.—l*	*z.l.—l*	*z.l.—(l)*	*m*
11	Round Pod Kidney Wax [2]) .	23 pl.: *z.l.* 1 pl.: *m.*	*z.l.*	*g—z.l.*	*g—z.l.*	*z.l.*	*g. z.l.*	*st.—d*
12	White Marrow	—	*z.l.*	*z.l.*	*z.l.*	*z.l.*	*z.l.*	*l—m*

[1]) Aantastingsgraden:

g = spoor van aantasting (zie p. 35); *z.l.* = zwam ingedrongen en daarna afgestorven (infectietype beschreven door LEACH 1923); *l* = vlekken tot 1,5 m.M. lang en 0,5 m.M. breed. *(l)* = zwam in bladsteel in de nabijheid van de oksel binnengedrongen. De steel is eenigszins bruin gekleurd, doch er ontstaan geen scherp begrensde vlekken, ook blijft het aangetaste weefsel turgescent; *m* = vlekken tot 2 à 3 c.M. lang en tot 1 m.M. breed, geen acervuli; *st* = sterke aantasting, vlekken ineenvloeiend, soms acervuli en planten deels afgestorven; *d* = aantasting als *st*, doch geheele plant afgestorven.

[2]) Uit een aangetaste plant van Round Pod Kidney Wax werden na infectie met stam *K* (1ste reeks de stammen *K B 1* en *K B 2* geïsoleerd.

teiten Nos. 1 t/m 6) en die, welke van BARRUS (Nos. 7 t/m 12) afkomstig zijn.

Wat de eerste variëteiten betreft, deze worden door stam *K B 2* slechts weinig meer aangetast dan door stam *K* (2de reeks). De boonen van BARRUS daarentegen worden allen door stam *K B 2* vrij sterk tot sterk aangetast, zoo zelfs, dat van de variëteiten Well's Red Kidney en Round Pod Kidney Wax planten tot afsterven gebracht werden. Bij infectie van deze variëteiten met stam *K* drong, in de meeste gevallen, de zwam slechts zeer weinig in het weefsel binnen om daarna af te sterven. (Plaat 13.)

Gaan wij thans over tot bespreking van deze resultaten.

Uit tabel 19 (p. 59) blijkt, dat bij de 2de reeks infecties met stam *K* op enkele variëteiten, die bij de eerste reeks infectieproeven vrijwel onaangetast bleven, een zeer lichte aantasting plaats vond. Deze bestond in het op meer plaatsen binnendringen van de zwam, die, daarna afstierf. (Zie LEACH 1923.)

Dit verschil tusschen beide infectieproeven is wellicht hierdoor te verklaren, dat de planten bij de eerste infectieproef wat ouder waren dan bij de tweede. Waar de zwam de planten toch reeds zoo weinig vermag aan te tasten zou het niet vreemd zijn, dat een gering verschil in ouderdom der planten verschil in aantasting gaf.

Opmerkelijk is, dat zoowel *Gloeosporium fructigenum* f. *germanica* Kr. en *Gloeosporium fructigenum* f. *americana* Kr., zij het in zeer geringe mate, in staat zijn *Phaseolus vulgaris* aan te tasten.

Over het algemeen toch wordt aangenomen, dat slechts *Colletotrichum Lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. in staat is op *Phaseolus vulgaris* L. anthracnose verschijnselen te voorschijn te roepen. Uit de resultaten van onze proeven blijkt echter, dat we voor *Gloeosporium fructigenum* f. *americana* en f. *germanica* en ook voor de stammen *K, K A en K B 1* hier niet met immuniteit, doch een zeer hooge graad van resistentie te doen hebben.

Stam *K A* drong in meer boonenvariëteiten in dan de oorspronkelijke stam *K*, waaruit na passage door appel, stam *K A* ontstaan is. In de meeste gevallen stierf de zwam, na in enkele cellen binnengedrongen te zijn, af. Toch kan wel gezegd worden, dat stam *K A* een weinig virulenter is dan stam *K*.

De virulentie van stam *K A* voor appels en tomaten is veel

grooter geworden dan die van stam *K* (zie § 5). Uit de resultaten van de infectieproeven met stam *K A* op *Phaseolus vulgaris* blijkt, dat voor deze boonensoort de virulentie van stam *K A* ook grooter is dan die van stam *K*, zoodat geconcludeerd kan worden, dat de passage van stam *K* door appel een vorm heeft doen ontstaan, die in alle opzichten virulenter is, dan de oorspronkelijke vorm.

Het gedrag van stam *K B 1* (een der beide vormen ontstaan na stam *K* door *Phaseolus vulgaris)* ten opzichte van de onderzochte boonenvariëteiten verschilt weinig van dat van stam *K*. We vinden dus, dat stam *K B 1* zeer sterk van stam *K* afwijkt in morfologisch opzicht en in virulentie voor appels en tomaten, doch dat er geen essentieel verschil in virulentie voor *Phaseolus vulgaris* te constateeren valt.

Bij de infectieproeven met stam *K B 2*, de andere uit stam *K* na passage door *Phaseolus vulgaris* ontstane vorm, doet zich het vreemde verschijnsel voor, dat voor een deel der boonenvariëteiten, en wel uitsluitend voor die, welke van Dr. LEACH, St. Paul, Minnesota afkomstig zijn, de virulentie van stam *K B 2* vrijwel gelijk is aan die van stam *K*, terwijl voor de vijf van Prof. BARRUS, Cornell University, Ithaca, afkomstige variëteiten, de virulentie zeer veel grooter is als die van stam *K*.

Voor dit verschijnsel is het niet mogelijk een enkelvoudige verklaring te vinden. Zooals wij reeds eerder opmerkten bestaat hier niet de tegenstelling „immuun — vatbaar", doch is er alleen verschil in de mate van vatbaarheid. Ook is het verschillende gedrag van beide groepen niet direct terug te voeren op morphologische verschillen: de groep boonen uit Minnesota bevat zeer uiteenloopende typen en die van Prof. BARRUS eveneens.

Wat nu de factoren zijn, die in deze groepen resistentie, respectievelijk vatbaarheid voor stam *K B 2* bepalen, laat zich uit de voorhanden gegevens niet afleiden. Wij moeten daarom deze vraag laten rusten en over gaan tot een nadere beschouwing van de waargenomen virulentie toename van stam *K B 2* voor de variëteiten: Well's Red Kidney, White Imperial, Burpee's White Wax, Extra Early Refugee, Round Pod Kidney Wax (zie plaat 13 en 14) en White Marrow.

Bij al deze variëteiten was de aantasting zoo sterk, dat deze veel overeenkomst vertoonde met een sterke aantasting door *Colletotrichum Lindemuthianum*. Wij dienen dus hier de vraag te

overwegen of hier niet een verontreiniging van het entmateriaal het resultaat van de infectieproeven beïnvloed heeft. Het is niet waarschijnlijk, dat dit het geval geweest is, want het zou zeer onwaarschijnlijk zijn, dat dan de boonen van Dr. LEACH, welke naast en tusschen die van Prof. BARRUS stonden onaangetast zouden blijven. Bovendien werden van de eerste groep boonenvariëteiten juist die variëteiten aangetast, welke ook het sterkst door de stammen *K*, *K A* en *K B 1* aangetast werden. Hieruit blijkt ook de verwantschap van stam *K B 2* met genoemde stammen (Vgl. § 4 p. 36) en we kunnen niet anders concludeeren dan, dat de aantasting van de variëteiten N°. 7 t/m 12 het gevolg is van het binnendringen van stam *K B 2*. Bovendien kon uit de aangetaste planten zonder uitzondering deze stam gereïsoleerd worden.

Stam *K B 2*, welke is ontstaan na passage van stam *K* door *Phaseolus vulgaris*, heeft dus in veel sterkere mate dan de oorspronkelijke stam het vermogen deze boonensoort aan te tasten. In § 5 is beschreven hoe deze stam zeer sterk in virulentie voor vruchten achteruitgegaan is. Wij hebben dus hier met een vrijwel complete omkeer in keuze van voedsterplant te doen: de oorspronkelijke stam *K* tastte verwonde appels en tomaten zeer sterk aan en kon slechts bij hooge uitzondering op *Phaseolus vulgaris* in eenigszins belangrijke mate anthracnose verschijnselen te voorschijn roepen; de nieuwe vorm *K B 2* heeft het vermogen om vruchten aan te tasten grootendeels verloren en is een zeer gespecialiseerde parasiet van *Phaseolus vulgaris* geworden.

Met deze physiologische veranderingen zijn morphologische veranderingen gepaard gegaan en daarom is het van belang in paragraaf 8: „Beschouwingen over de variabiliteit van stam *K*" (p. 66) consequenties te trekken uit het feit, dat uit een met *Gloeosporium fructigenum* sterk overeenkomende zwam een vorm kan ontstaan, die in physiologisch en morphologisch opzicht verwantschap met *Colletotrichum (Gloeosporium) Lindemuthianum* (Sacc. et Magn.) Bri. et Cav. vertoont. De overweging van deze quaestie is tevens van belang voor ons inzicht in de quaestie van de vorming van biologische rassen.

§ 7. NOMENCLATUUR VAN STAM *K*.

Uit de in de vorige §§ vermelde resultaten blijkt, dat van *Phaseolus multiflorus* Wild. geïsoleerde *Gloeosporium* species (stam *K*) in zeer veel opzichten van *Colletotrichum Lindemu-*

thianum, waarvan bekend is, dat deze een enkele maal peulen de pronkboon aantast, afwijkt.

Zoo zijn er verschillen in beïnvloeding van den groei door de temperatuur (hoofdstuk IV, § 2, p. 33) en in afmeting der conidiën (§ 4, p. 36). Het meest typische verschil is echter dat in infectievermogen voor *Phaseolus vulgaris* eenerzijds en vruchten van appel en tomaat anderzijds. Zoo is het infectievermogen van stam *K* voor *Phaseolus vulgaris* zeer gering en voor appelen en tomaten groot, terwijl *Colletotrichum Lindemuthianum* een groot infectievermogen voor *Phaseolus vulgaris* bezit en appelen in het geheel niet en tomaten bij uitzondering vermag aan te tasten. Stam *K* is dus zeker niet als een vorm van *Colletotrichum Lindemuthianum* te beschouwen.

In verband met de groote virulentie van stam *K* voor appels is nagegaan of stam *K* niet een vorm van *Gloeosporium fructigenum* Berkeley is. Stam *K* werd hiervoor vergeleken met een tweetal vormen van deze zwam, n.l. *Gloeosporium fructigenum* forma *germanica* Kr. (afkomstig van appel) en *Gloeosporium fructigenum* forma *americana* Kr. (afkomstig van banaan). Bij dit onderzoek werd gevonden, dat in eenige opzichten overeenkomst bestaat met *Gloeosporium fructigenum* forma *germanica*, terwijl in andere opzichten de overeenkomst met *Gloeosporium fructigenum* forma *americana* grooter is.

Stam *K* komt door den snellen groei, door de betrekkelijk hooge optimum temperatuur en in infecteerend vermogen voor verwonde appelen en tomaten overeen met *Gloeosporium fructigenum* f. *americana*. Er is echter verschil in de wijze, waarop de verwonde appelen aangetast worden; in dit opzicht gedraagt stam *K* zich op dezelfde wijze als *Gloeosporium fructigenum* forma *germanica* (zie p. 54). Stam *K* kan echter niet-verwonde appelen en tomaten niet aantasten, wat *Gloeosporium fructigenum* f. *germanica* wel kan.

Met betrekking tot de grootte van de conidiën is de overeenstemming van stam *K* met *Gloeosporium fructigenum* minder goed.

De sporengrootte is echter geen betrouwbare maatstaf om de verwantschap van stam *K* met *Gloeosporium fructigenum* te bepalen, want van deze soort loopen de opgaven over de afmetingen der sporen zeer uiteen.

Zoo vindt men in de literatuur de volgende opgaven:

Saccardo . . .	(1894)	op appels	:	20 — 30	× 5	— 6 μ
Alwood . . .	(1902)	„ „	:	10 — 12	× 4	— 6 μ
Clinton . . .	(1902)	„ „	:	12 — 16	× 4	— 5 μ
von Schrenck en Spaulding .	(1903)	„ „	:	10 — 28	× 3,5	— 7 μ
		meest voorkomende grootte	:	12 — 16	× 4	— 5 μ)
Scott	(1906)	op appels	:	10 — 15	× 4	— 5 μ
Shear en Wood	(1913)	„ „	:	10 — 42	× 3	— 9 μ
Krüger	((1913)	*Gl. fr.* forma *americana* op appels	:	16 — 18,4	× 4,6	— 5,7 μ
		Gl. fr. forma *germanica* op appels	:	16 — 20,5	× 4,6	— 5,7 μ
Voor stam *K* vonden wij.				7, 8—15,4	× 4,5	— 7,5 μ

De gemiddelde grootte was 9,6 × 5,7 μ.

Stam *K* heeft dus kleinere sporen dan de meeste auteurs voor *Gloeosporium fructigenum* vermelden.

Toch hoeft dit er niet op te wijzen, dat stam *K* niet met *Gloeosporium fructigenum* verwant is. In de eerste plaats zijn uit stam *K* een tweetal variaties ontstaan (de stammen *K B 1* en *K B 2)*, welke een sporengrootte bezitten, welke goed met de in de literatuur vermelde overeenkomt: *K B 1* : 17,9 × 8,0 μ en *K B 2 : 11,9* × 5,7 μ.

In de tweede plaats is de variabiliteit in sporengrootte van *Gloeosporium fructigenum* zoo groot, dat KRÜGER (1913, p. 303) zegt:

„.....die auf den einzelnen Nährboden aufgetretenen Schwankungen innerhalb ein und derselben Art (sind) grösser, als die Verschiedenheiten zwischen den Mehrzahl der bearbeiteten Arten", en verder: „....im allgemeinen ist, wie gezeigt, die Grösse der Konidien jedenfalls etwas sehr Unsicheres, und viel Wert hat sie für Beurteilung der systematischen Stellung der einzelnen Arten nicht."

Stam *K* gelijkt dus in sommige opzichten op *Gloeosporium fructigenum* f. *americana* en in andere op *Gloeosporium fructigenum* f. *germanica*. Wanneer we er bovendien rekening mede houden, dat stam *K* geïsoleerd is van een peul van een pronkboon, welke groeide in de onmiddellijke nabijheid van de appelboomen, is na de in het bovenstaande vermelde punten van overeenkomst van stam *K* met *Gloeosporium fructigenum* het geoorloofd te concludeeren, dat stam *K* beschouwd moet worden als een vorm van *Gloeosporium fructigenum* Berk.

Het is echter niet mogelijk stam *K* met de door KRÜGER beschreven forma *germanica* of forma *americana* van deze zwam te identificeeren. Uit tabel 7 (p. 34) blijkt, dat er verschil is in de wijze, waarop de groei door de temperatuur beïnvloed wordt. Ook gedragen zij zich verschillend bij infectie op verwonde tomaten (zie tabel 16, p. 50 en plaat 10 en 11).

Stam *K* moet daarom beschouwd worden als een nieuwen vorm van *Gloeosporium fructigenum:*

Gloeosporium fructigenum Berkely forma *hollandica* nov. forma.

De diagnose van dit species, zooals SACCARDO (1894) deze geeft, moet in verband hiermede met eenige punten aangevuld worden. Diagnose van SACCARDO (Fungi italica tab. 1042. Syll. III, p. 718) uit Rabenhorst 1903 Bd. 1 Abt. 7, p. 492—493:

Gloeosporium fructigenum Berk. Gard. Chron. 1856.

„Sporenlager concentrisch angeordnet, schmutzig rosenroth, bald mit einem einfachen Porus, bald lappig hervorbrechend, polsterförmig; Sporen länglich oder cylindrisch, oft etwas gekrümmt, 20—30 μ lang, 5—6 μ dick, körnig hyalin; Sporenträger fast so lang wie die Sporen, einfach, seltener gabelteilig, einzellig".

forma hollandica:

1. Conidiën meestal recht, zelden gebogen. Lengte der conidiën 9,6 μ, breedte 5,7 μ.
2. Op kersenagar worden sporen gevormd:
   a. verspreid aan het einde van hyphen;
   b. in avervuli;
   c. in pseudopycniden;
   d. in pycniden, welke meestal in groepen vereenigd zijn; in dit geval zijn de wanden tusschen de afzonderlijke pycniden vaak onvolkomen.
3. In de acervuli ontbreken setae.
4. Peritheciën werden niet waargenomen.
5. Minimum temperatuur voor groei ligt tusschen 0° en 5° C., de optimum temperatuur bedraagt ongeveer 25° C. en de maximum temperatuur 30—35° C.
6. In appels en tomaten kan de zwam slechts door wonden binnendringen.
7. Bij aantasting van appels is het verrotte deel kegelvormig.

8. Passage van de zwam door appels en tomaten doet de virulentie voor deze vruchten in hooge mate toenemen: voor tomaten wordt de zwam na passage door appel van wondparasiet een echte parasiet.
9. De zwam is in staat op *Phaseolus multiflorus* Wild. en *Phaseolus vulgaris* anthracnose verschijnselen te voorschijn te roepen.
10. Bij infectie van *Phaseolus vulgaris* dringt de zwam in de meeste gevallen slechts enkele cellen binnen om daarna af te sterven.
11. Passage door *Phaseolus vulgaris* doet de virulentie voor appelen en tomaten af- en onder bepaalde omstandigheden die voor *Phaseolus vulgaris* toenemen.
12. De zwam is in staat constant blijvende variaties te leveren, welke in physiologische en morpholgische eigenschappen van den oorspronkelijken vorm afwijken.

§ 8. BESCHOUWINGEN OVER DE VARIABILITEIT VAN *GLOEOSPORIUM FRUCTIGENUM* FORMA *HOLLANDICA*.

In de voorgaande § hebben wij gezien, hoe uit stam *K* meerdere, van den oorspronkelijken vorm afwijkende, cultures zijn ontstaan, waarbij van een deel dezer variaties bekend is, onder invloed van welke omstandigheden zij ontstaan zijn.

Alvorens deze variaties van stam *K* te beschouwen, is het noodig, eerst het wezen van variaties bij fungi in het algemeen te bespreken.

In de mycologische literatuur worden zeer vele gevallen van het plotseling optreden van nieuwe vormen vermeld, die, wanneer zij in één-spore-cultures of in cultures ontstaan uit één myceliumdraad optreden, meestal als „mutaties" betiteld worden.

Zooals BRIERLEY (1924) opmerkt, wordt in de mycologische literatuur vrijwel steeds op ongeoorloofde wijze het begrip mutatie uit de genetica der hoogere planten en dieren voor verschijnselen bij fungi gebruikt. Dit begrip toch mag niet zonder meer op verschijnselen op het gebied der mycologie overgedragen worden. In de genetica der hoogere planten en dieren verstaat men onder het begrip mutatie: „....die Erscheinung, dass aus irgend welchen, meist unbekannten Ursachen die Nachkommen eines Elters oder eines Elternpaares neue *erbliche* Eigenschaf-

ten, d.h. eine andere Reaktionsweise auf die Ausseneinwirkungen aufweisen als die Eltern, wobei die neuen Eigenschaften nicht blosz auf einer Neukombination von Grundunderschieden beruhen." (BAUR 1919).

Om dus een mutatie te kunnen constateeren, moet dus het genotype van het (de) ouderindividu(en) bekend zijn.

Van geen enkel schimmelgeslacht beschikt men tot op heden over voldoende kennis van het genotype om over het optreden van genotypisch afwijkende individuën in de nakomelingschap te kunnen oordeelen. Het gebruik van het begrip mutatie bij fungi is hierom nog niet geoorloofd. Bij de schimmels, die zich sexueel voortplanten, is het dus niet mogelijk om uit te maken of een nieuwe vorm een mutatie is; bij de schimmels, welke zich asexueel voortplanten (zooals stam *K* doet) is het in het geheel onmogelijk om na te gaan of een genotypische verandering opgetreden is. Bij de zich asexueel voortplantende fungi kunnen plotseling optredende nieuwe vormen zijn: mutaties in den waren zin des woords of modificaties, want door het ontbreken van sexueele voortplanting is het ontstaan van nieuwe factoren combinaties, welke een nieuwen vorm zouden geven, uitgesloten.

Om uit te maken of men met een echte mutatie of met een modificatie te doen heeft, zou men men de nakomelingschap moeten onderzoeken, doch bij deze fungi imperfecti ontstaat geen echte nakomelingschap, want de asexueele voortplanting is te beschouwen als een voortdurende verjonging van eenzelfde individu.

Slechts in enkele gevallen zal het mogelijk zijn met vrij groote waarschijnlijkheid vast te stellen, dat een nieuwe vorm een modificatie is. Een modificatie is het gevolg van een door het genotype veroorzaakte mogelijkheid om onder bepaalde omstandigheden een andere dan de typische vorm, welke op haar beurt weer een van de vele ontwikkelingsmogelijkheden is, aan te nemen.

Wanneer de factor, welke het optreden van den nieuwen vorm regelt, ophoudt te werken, wordt na korter of langer tijd de oorspronkelijke „typische" vorm weer aangenomen.

Alleen wanneer spoedig na het terugbrengen van den nieuwen vorm onder de „normale" omstandigheden de oorspronkelijke vorm weer ontstaat, kan met eenige waarschijnlijkheid gezegd worden, dat de nieuwe vorm een modificatie was. (Zoo is b.v. het door CHAUDHURI (1924) beschreven geval van het optreden

van afwijkende vormen in cultures van *Colletotrichum biologicum* Chaudh (zie p. 43) zeer waarschijnlijk een voorbeeld van het optreden van een modificatie.)

In alle andere gevallen moet de vraag of een nieuwe vorm mutatie of modificatie is onbeslist blijven. Het lijkt ons daarom gewenscht in deze gevallen de nieuwe vorm een „*constante variatie*" te noemen.

Alle uit stam *K* ontstane nieuwe vormen moeten o. i. als zulke constante variaties beschouwd worden.

Uit stam *K* zijn ontstaan de stammen: *K B 1*, *K B 2*, *K A* en *K 30*, terwijl uit stam *K B 1* eveneens stam *K 30* ontstaan is.

Met uitzondering van stam *K 30* zijn al deze vormen ontstaan door passage van stam *K* door bepaalde voedsterplanten. Die passage heeft belangrijke afwijkingen in physiologisch en morphologisch opzicht doen ontstaan, en deze nieuwe eigenschappen bleven bij voortgezette cultuur der nieuwe vormen, bestaan. Ieder van de nieuwe vormen heeft naast de afwijkende eigenschappen ook eigenschappen, die met die van de oorspronkelijke stam *K* overeen komen.

Wanneer we stam *K B 1*, welke na passage van stam *K* door Phaseolus vulgaris is ontstaan, vergelijken met de oorspronkelijke vorm dan vinden we, dat stam *K B 1* van stam *K* afwijkt door verschil in kleur, hooger optimum temperatuur voor groei, kleinere groeisnelheid (tabel 7), door het vormen van grootere sporen (tabel 11) en doordat stam *K B 1* appels en tomaten langzamer en minder aantast dan stam *K* (tabel 15 en 16).

Belangrijk is, dat stam *K B 1* met stam *K* overeenkomt door gelijke virulentie voor *Phaseolus vulgaris* en doordat onder bepaalde omstandigheden uit stam *K B 1* de stam *K 30* ontstaan kan, welke ook uit stam *K* gevormd kan worden. (Plaat 13).

De stam *K 30* wijkt van stam *K* af door witte kleur en door absorptie van de kleur van kersenagar als de zwam hierop gekweekt wordt, terwijl stam *K 30* met stam *K B 1* alleen overeenkomt door de witte kleur. De overige verschilpunten van stam *K B 1* met stam *K* zijn dus weer verloren gegaan.

Stam *K B 2*, ontstaan na passage van stam *K* door *Phaseolus vulgaris*, wijkt van de oorspronkelijke vorm af door: veel geringere groeisnelheid, lagere optimum temperatuur voor groei (tabel 7), grootere conidiën (tabel 11), veel geringer virulentie voor appels en tomaten (tabel 15 en 16). Voor *Phaseolus vulgaris*, althans

voor een deel der onderzochte variëteiten, is de virulentie van stam *K B 2* zeer veel grooter dan die van stam *K*.

Bij stam *K B 2* heeft de passage door *Phaseolus vulgaris* een algeheele omkeer in keuze van voedsterplant teweeg gebracht. Dit verschijnsel is van zeer veel belang, daar hieruit blijkt, dat het mogelijk is, dat sterke anthracnose verschijnselen door een vorm van *Gloeosporium fructigenum* Berkeley te weeg gebracht kunnen worden, welke aantastingen zonder meer niet van die van *Colletotrichum Lindemuthianum* onderscheiden kunnen worden. Bovendien komt de groeisnelheid van stam *K B 2* op kersenagar sterk overeen met die van vormen van *Colletotrichum Lindemuthianum*. Een ander punt van overeenkomst met *Colletotrichum Lindemuthianum* is de specialisatie ten opzichte van boonenvariëteiten: enkele variëteiten worden zeer sterk, andere vrijwel niet aangetast. Stam *K B 2* verschilt van *Colletotrichum Lindemuthianum* voornamelijk in virulentie voor appels en tomaten (zie tabel 14, 15 en 16) en door de grootte der conidiën (tabel 12 en 13).

Stam *K B 2* verschilt dus zeer weinig van *Colletotrichum Lindemuthianum* en kan hiermede zeer gemakkelijk verward worden.

Waar dit het geval is zou het zeer de moeite waard zijn om na te gaan of onder de talrijke bekende biologische rassen van *Colletotrichum Lindemuthianum* geen rassen zijn, die rassen van *Gloeosporium fructigenum* zijn.

Bij een dergelijk onderzoek zijn 2 punten van belang. In de eerste plaats kan een ras van *Gloeosporium fructigenum* nog appels aantasten en in de tweede plaats moet in verband met de „Regel van VAVILOV" (1918) nagegaan worden hoe het gedrag is bij infectie van *Phaseolus vulgaris*.

Bedoelde Regel van VAVILOV luidt:

„.... specialisation of a parasite determines the existence of immune varieties among a botanical species and genus. The feebler the specialisation of a parasite on genera and species of host-plants, the less the chance of existence and consequently of finding immune varieties. If a fungus does not distinguish generic and specific peculiarities there is small probability that it will react on the less sharp morphological and physiological differences of varieties in the limits of ons botanical species. On the contrary a narrow specialisation, limited to one or a few nearly allied species, is as a rule connected with differences in reaction of a parasite on

varietal peculiarities, i. e. with the sensitiveness of a parasite to distinguish differences of varieties." (VAVILOV 1918, p. 231).

Colletotrichum Lindemuthianum kan alleen *Phaseolus vulgaris* aantasten, we vinden dan ook bij deze zwam een sterke specialidatie ten opzichte van de variëteiten van dit species: een deel der variëteiten wordt aangetast, terwijl bij andere zelfs elk spoor van aantasting uitblijft (Vgl. p. 7).

Gloeosporium fructigenum Berkeley is door SHEAR en WOOD (1913) gevonden op: *Crataegus* spec., *Pirus Malus, Rubus trivialis* Michx, *Smilax medica* Shl. et Cham., *Vitis labrusca* L. en *Vanilla planifolia* Andr., terwijl volgens de door bovengenoemde auteurs vermelde lijst van kruisinfecties met *Gloeosporium* spec. van appel geslaagde infecties werden verkregen op: *Musa paradisica sapientum* L., *Berberis* spec., *Solanum melongena, Solanum Lycopersicum,* spec., *Lathyrus odoratus, Phaseolus lunatus* L., *Phaseolus vulgaris* L., *Pirus communis, Cydonia vulgaris, Prunus cerasus, Prunus domestica, Prunus persica, Mangifera indica* en *Vitis vinifera.*

Hieruit blijkt duidelijk het polyphage karakter van *Gloeosporium fructigenum* Berkeley.

Bij de infectie van *Phaseolus vulgaris* vinden we dan ook geen absoluut immune variëteiten: allen worden in meerdere of mindere mate aangetast.

Uit het bovenstaande blijkt, dat het in bepaalde gevallen zeer moeilijk kan zijn een stam van *Gloeosporium fructigenum* van *Colletotrichum Lindemuthianum* te onderscheiden.

Ook zagen we, dat het kweeken van *Gloeosporium fructigenum* op *Phaseolus vulgaris* een vorm kan geven, die sterk aan dit genus is aangepast en zelfs de belangrijke eigenschap van aantasting van appels en tomaten voor een groot deel heeft verloren.

Het is de vraag of deze aanpassing niet verder kan gaan en het vruchten aantastend vermogen niet geheel verloren kan gaan en dus uit *Gloeosporium fructigenum* niet een aan *Colletotrichum Lindemuthianum* identieke vorm kan ontstaan, temeer daar gebleken is, dat passage van *Gloeosporium fructigenum* door *Phaseolus vulgaris* de tendens heeft de sporengrootte te doen toenemen en hierdoor een der belangrijkste verschilpunten met *Colletotrichum Lindemuthianum* te doen verdwijnen.

Ten slotte moet nog de na passage van stam *K* door appel ontstane vorm *K A* besproken worden.

Deze vorm verschilt van stam *K* door de grootere virulentie

voor appels (zie tabel 15 en 18) en doordat deze niet, zooals stam *K* voor tomaten uitsluitend een wondparasiet is, doch ook niet-verwonde tomaten kan aantasten (zie tabel 16).

Stam *K* is uit *Phaseolus multiflorus* geïsoleerd en van deze stam gaat door passage door *Phaseolus vulgaris* (dus door een aan *Ph. multiflorus* nauw verwant species), de virulentie voor vruchten sterk achteruit. Het is daarom niet geheel onmogelijk, dat de oorspronkelijke stam *K* een vorm van *Gloeosporium fructigenum* is, waarvan de virulentie voor appels ten gevolge van de passage door *Ph. multiflorus* gedaald is. In dit geval zou dus niet stam *K*, doch stam *K A* de typische vorm van *Gloeosporium fructigenum* forma *hollandica* zijn. Dit is niet geheel onwaarschijnlijk, omdat door één keer passeeren van stam *K* door appel of tomaat de virulentie voor appels weer stijgt, terwijl na een volgende passage door appel deze stijging niet verder gaat. (Tabel 16 en 18.)

Of echter stam *K* dan wel stam *K A* als den typischen vorm van een *Gloeosporium fructigenum* forma *hollandica* beschouwd moet worden, is niet uit te maken door de groote mate van variabiliteit van deze zwam. Een voorbeeld hiervan wordt nog door SHEAR en WOOD (1913) beschreven. Deze vermelden van *Glomerella rufomaculans* (= *Gloeosporium fructigenum*) geïsoleerd van *Rubus trivialis*, dat wanneer men appelen infecteert met een cultuur welke éénmaal door appel gepasseerd is, de infectie veel sneller verloopt dan bij de eerste infectie en acervuli gevormd worden, terwijl dit bij de eerste infectie niet het geval was. Naar aanleiding van de resultaten, verkregen na infectie met een cultuur, welke 2 maal door appel gepasseerd is, zeggen SHEAR en WOOD: „These experiments seem to indicate that the dewberry *(Rubus trivialis)* form of *Glomerella* becomes quickly adapted to growth on appels, developing in the third generation about as rapidly as the fungus taken directly from apples and producing typical rot and acervuli".

Hieruit blijkt hoe zeer de eigenschappen van *Gloeosporium fructigenum* variabel zijn en hoe deze zwam in staat is zich aan verschillende voedsterplanten aan te passen.

De aanpassing kan op verschillende wijzen tot stand komen.

Ten eerste kan de aangepaste vorm een modificatie zijn in den zin als omschreven op p. 67. In dit geval is dus de genetische constitutie van de zwam onveranderd gebleven.

In de tweede plaats kan het genotype van den nieuw opgetreden vorm van dat van de oorspronkelijke stam afwijkend zijn.

Deze afwijking kan ontstaan zijn, doordat een vegetatieve splitsing is opgetreden en de vormen, welke op het nieuwe substraat niet kunnen leven, niet tot ontwikkeling zijn gekomen, zoodat men bij reïsolatie van de zwam in plaats van de oorspronkelijke een sterk afwijkende vorm terug krijgt.

Daar de onderzochte stam *K* van *Gloeosporium fructigenum* zich asexueel voortplant, ontbreekt de mogelijkheid om na te gaan of de variaties, modificaties of mutanten zijn.

SUMMARY IN ENGLISH.

INVESTIGATIONS ON *COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM* (SACC. ET MAGN.) BRI. ET CAV. AND ON *GLOEOSPORIUM FRUCTIGENUM* BERK. FORMA *HOLLANDICA* NOV. FORMA.

Introduction.

In this paper are described the experiments which have led me to the conclusion that in Holland there are at least four biologic forms of *Coll. Lindemuthianum*. It has been proved that these forms are not identical with the strains of the funges found by BARRUS (1911, 1918), BURKHOLDER (1923) and LEACH (1923) in America.

The writer has tried to find out if besides differences in pathogenicity of biologic forms for a number of bean varieties, there are also other physiological and morphological differences.

Another point that has been studied is the hibernation of the fungus in the soil. Up till now it was not sufficiently proved that the fungus could overwinter in soil free of parts of the bean plant and that when growing upon this medium the fungus could endure low temperatures.

To investigate if the fungus isolated from anthracnose spots upon a pod of *Phaseolus multiflorus* Wild was a special strain of *Coll. Lindem.*, inoculations were made upon seedlings of *Phaseolus vulgaris* L.

The results of these inoculations and the rapid growth of the fungus upon nutrient agars led to the conjecture that the fungus might be a form of *Gloeosporium fructigenum* Berk.

This supposition proved to be true as apples and tomatoes could readily be infected while the pathogenicity of the fungus for *Phas. vulgaris* was low.

The new fungus was named *Gloeosporium fructigenum* forma *hollandica* nov. forma.

Inoculation experiments with the fungus reïsolated from infected beans, apples and tomato-fruits showed that the pathogenicity can greatly be modified under influence of the hospes.

In a separate paragraph (Part II § 8 p. 66) the consequences of this great variability in pathogenicity are discussed in relation to the formation of biologic strains.

PART I. INVESTIGATIONS ON *COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM* (SACC. ET MAGN.) BRI. ET CAV.

CHAPTER I. BIOLOGIC FORMS OF THE FUNGUS.

Biologic forms of *Coll. Lindem.* are only described by American authors: BARRUS (1911, 1918), EDGERTON and MORELAND (1916), BURKHOLDER (1923) and LEACH (1923).

In Europe no biologic forms of the fungus have been found up till now (e.g. SCHAFFNIT and BÖNING (1925) conclude that biologic strains do not occur in Germany).

To prove if biologic strains occurred in the Netherlands, inoculation experiments were made with cultures of *Coll. Lindem.* from four sources upon a number of the same bean varieties as were used by BARRUS (1918), BURKHOLDER (1923) and LEACH (1923) in their experiments with American strains of the fungus, in order to investigate if any Dutch strains which might be found were identical with the American strains.

Two cultures were isolated from diseased pods of *Phas. vulg.* from 's Heer Arendskerke (Zeeland), these strains are indicated as *Z I* and *Z II;* the third strain (strain *E*) was isolated from a pod of a haricot bean from Enkhuizen; and the fourth strain (strain *W*) was isolated from a pod of Dubbele Hollandsche Prinsesseboon from 's Gravenzande (Westland).

Inoculation experiments were made at the same time with the four strains upon the same bean varieties in separate infection cells in the greenhouse of the Laboratory for Mycology and Potato Research, Wageningen.

The beans were inoculated by spraying them with a suspension of conidia in water, when the plants were 14 days old.

Two days later the inoculation was repeated. Twelve days after the first inoculation the following results were noticed by means of the following scale.

Degree of infection symptoms.

10 Plants dead.
8 Heavy; large spots; upon the spots very many acervuli.
6 Moderate; many acervuli.

4 Slight; few acervuli.
2 very slight; no acervuli.
0 no trace of infection.

The use of numbers for noting the degree of infection makes it possible to calculate the average and the probable error.

Table I gives the results of the inoculation experiments upon the bean varieties sent by BARRUS. In the last column of this table the figures a, b and c indicate that the bean variety concerned, is susceptible to the strains α, β and γ of BARRUS and BURKHOLDER, while the capitals A, B and C indicate if the variety is resistent to these strains.

Table 1 (p. 9) shows that the strains *Z I*, *Z II*, *E* and *W* act differently upon the bean varieties used and also that they differ from the American strains α, β and γ

Table 2 (p. 11) gives the results of the inoculations upon the bean varieties, which LEACH (1923) used to classify unknown biologic forms.

Table 3 (p. 11) is LEACH's analytical key to biologic forms of *Coll. Lindem.*

From table 2 appears that the strains *Z I* and *Z II* react in the same way upon the seven bean varieties, and according to table 3 both must be identical to form VIII of LEACH.

However, the results of the inoculation experiments upon the bean varieties sent by BARRUS (table 1) show that the strains *Z I* and *Z II* are different biologic strains and herewith it is proved that LEACH's analytical key is not suitable for identifying new forms with those found by him.

The strains *E* and *W* differ in reaction upon the variety Brown Swedish, Minn. 132 and according to table 3 they would be identical with the forms IV and V respectively of LEACH. Yet it is uncertain if this is true for, the same objection which LEACH makes against some conclusions of BARRUS (1918), can be made in this case: viz „.....these forms may act differently on many other bean varieties which were not inoculated".

In some cases it was found that besides differences in the degree of inoculation there are also differences in the mode of infection.

Though the plants of the variety Yellow Eye 17-541-12-1-6 were at the moment of infection of the same age and had been treated in just the same way and both strains *Z I* and *Z II*

kill the plants, after inoculation there was a difference in the result of the infection.

Of the plants inoculated with strain *Z II* the whole stalk was heavily attacked, while after infection with strain *Z I* only the epicotyle part and the base of the stalk were infected (Plate 3).

A similar case was found after inoculation of the variety Michigan Robust Pea Bean with the strains *Z I*, *Z II*, E and *W*.

Strain *Z II* gave a very slight infection upon the youngest parts of the plants.

Strain *W* killed the plants above the first pair of leaves.

Strain *Z I* caused a heavy infection upon the younger parts of the stalk and the petioles. The type of infection was quite different from the usual one; the diseased parts turned brown though they rested turgescent and no sharply limited spots occurred. Growth was nearly entirely stopped: in 3 weeks the plants grew only 2—3 cm. longer. No acervuli were formed upon the diseased parts.

Strain *E* killed the plants entirely; on the diseased parts very many acervuli were formed. (Plate 2 and 3).

After it was found that there are different strains of *Coll. Lindemuthianum* in Holland, an effort was made to find other physiological and morphological characteristics of these strains.

Table 4 (p. 15) gives the daily growth in m.m. of the strains upon cherry-agar at different temperatures.

The minimum-, optimum- and maximum-temperatures which were found are the same as found by EDGERTON (1915), BARRUS (1921), LEACH (1923) and SCHAFFNIT und BÖNING (1925).

The lethal temperature for strain *Z I* lies between 28° and 30° C.; for the other strains between 30° and 35° C. Under 20° C. the strains *E* and *W* grow slower than the strains *Z I* and *Z II*. The optimum temperature for the latter strains is about 20° C. and for the former strains about 25° C.

The results of the inoculation experiments have shown that the strains *Z I* and *Z II* are nearly related to each other (e. g. see table 2 p. 11) and also that the strains *E* and *W* differ from each other only in their reaction upon a few bean varieties (table 1 and 2).

The mode of growth of the strains *Z I* and *Z II* upon nutrient agars is too nearly alike; young cultures of these strains are quite

identical (plate 7 and 8). The strains *E* and *W* have also the same mode of growth upon agar media.

All these facts show that the strains *Z I* and *Z II* are evidently nearer allied to each other as to the strains *E* and *W*.

Slight differences however between the strains *Z I* and *Z II* have been found. Especially when grown at 20°, 25° and 30° C. upon cherry agar, the colour of the elder colonies of strain *Z II* turns black earlier than the colour of colonies of strain *Z I* of the same age, upon the same agar and treated in the same way (Pl. 6). LEACH (1923) says that within a strain the variability of the characteristics of the colonies upon nutrient agars is so great that it is impossible to use growth characteristics as a means of differentiating biologic strains. Pl. 4 and 5 show however that the differences in growth between cultures of the strains *E* and *Z II* at different temperatures are rather constant.

CHAPTER II. HIBERNATION OF *COLLETOTRICHUM LINDEMUTHIANUM* IN SOIL.

From the literature upon this subject one could conclude that the fungus can only hibernate upon parts of the beanplant in the soil, and over the question if the fungus in the soil or upon nutrient agars can endure low temperatures the opinions of the different writers vary considerably.

BARTRAM (1916) found that upon undried Lima-bean agar the fungus lived 35 days in which time many frost periods occurred in which the temperature sank to —13°, —9°, —23°, —19° and —29° C.

SCHAFFNIT und BÖNING found that a three days freezing (-3° to -5° C) of cultures upon starch killed the fungus.

Tho find out if the fungus can live in earth without any parts of bean plants and if it can endure in earth low temperatures, the following experiments have been made.

Some cc. of a spore suspension of strain E were poured over a sterile mixture of beach-leaf-soil and sand in glass tubes. In 4 days a dense growth of mycelium was visible upon and in the soil. Four days after inoculation one lot of tubes was placed at a temperature of 20° C, another at a -2° C, and a third in a coolcellar in which for 12 hours the temperature sank from -2° C to -7° C and in the course of the following 12 hours raised from -7° C to -2° C. The rest of the cultures was placed upon a shell in a

bicycle shelter outside the laboratory, only protected against rain and snow. During the experiment from Nov. 16th 1923—March 27th 1924 the temperature outside was on 88 days for a longer or a shorter time below 0° C, on 33 days temperature sank below -5° C, on 12 days below 7,5 C and on 5 days below -10° C. The lowest temperature registered was -16° C. December 31th 1923), while from March 4th—21th 1924 the temperature sank every night below 0° C while the temperature during the day was high.

Table 5 (p. 21) shows that the longevity of the fungus in soil is very great and that it can hibernate in the climate of Hlland in the soil.

Generally, organisms cannot endure freezing and thawing repeatedly but table 5 shows that our fungus could quite well endure this (groep IV, placed in the open air was still living after the period of night frosts from March 4th—21th 1924).

The question also was investigated how long a temperature from —15° to —20° C. could be endured.

For this experiment, cultures from the groups I, II, III and IV being a part of the former experiment were used. After being subjected for 80 days to the treatment of each of these groups, cultures were placed in a refrigator at a temperature from —15° C. to —20° C. Every two days two cultures of each group were controlled by inoculating bean agar plates in Petri dishes with them. It proved that for even 10 days the cultures of each of the four groups could endure a temperature of from —15° C. to —20° C. It is an interesting fact that the longer the cultures stayed at from —15° C. to —20° C., the longer time was needed for forming avervuli after inoculations from the cultures were made upon bean-agar (table 5 (p. 22) column 6).

CHAPTER III. PERITHECIUM FORMATION.

Only SHEAR and WOOD (1907, 1913) mention the occurrance of perithecia of *Coll. Lindem.* As these authors dit not perform inoculations upon *Phaseolus vulgaris* they did not prove sufficiently that the perithecia did really belong to the fungus in question. (See the citation of the observations of SHEAR and WOOD (1913) on p. 25-26.)

Besides this EDGERTON (1915) proved that it is possible that upon anthracnose diseased bean pods ascogenous *Glomerella*

species occur, which seem to live saprophytically upon the spots caused by *Coll. Lindem.*

As the other authors on the subject (FRANK 1883, STONEMAN 1898, EDGERTON 1908, 1915, HEMMI 1920, SCHAFFNIT 1920, 1922, SCHAFFNIT and BÖNING 1925) did not find either mature perithecia or perithecium-like bodies „it is doubtful if the perithecial stage of *Colletotrichum Lindemuthianum*, has even been seen." (EDGERTON, 1915).

The present author has given in chapter III some observations on perithecium-formation which are yet published, though the research work had to be broken off, as they may contain some indications for other workers on the subject.

In elder cultures of the strain *Z I* and later on also in cultures of the strains *Z II*, *E* and *W* on beanbroth-agar and -gelatine perithecium-like bodies were found. These bodies were globular to pear shaped. A well defined layer of dark brown, 10 μ wide hyphae contained a hymenium of hyalin, plasma filled, 5 μ wide hyphae, which at their end bore ascus-like bodies, which contained from 2 to 8 nuclei. (Plate 16.)

The perithecium-like bodies were quite different from the pycnidia and pseudo-pycnidia of *Coll. Lindem.* as pycnospores failed.

Besides this, pycnidia always got fully matured at last but it was impossible to bring the perithecium-like bodies further than the abovementioned stage.

Though it is not proved that the described bodies are perithecia, the author is inclined to think that they are unripe perithecia of *Coll. Lindem.* as they were produced in cultures which had a high pathogenicity for *Phas. vulgaris*.

The perithecium-like bodies only occurred in cultures which were at least two and a half month old. It was also proved that the light did greatly influence the formation of the bodies. In a series of experiments one series of 30 cultures was placed in the light and at the same time a control series in the dark, both in the same room at the same temperature. After 3 month' 28 cultures of those placed in the light had formed perithecium-like bodies while this was the case in only 3 of the cultures placed in the dark.

Once it was found that a lot of these bodies were heaped up along a splitter of wood in the agar. (Plate 16.) It was tried to

stimulate the formation of the perithecium-like bodies by bringing hard substances in the cultures, but with no success.

It seems that besides the age of the cultures and the light there are other factors which influence the formation of perithecium-like bodies as an effort to get those bodies at any other time failed, though the experimental circumstances were just the same as formerly.

PART II. INVESTIGATIONS ON A *GLOEOSPORIUM* SPEC. ISOLATED FROM *PHASEOLUS MULTIFLORUS* WILD.

About the anthracnose of *Phas. multiflorus* but little is known.

Therefore as we got diseased pods of this bean species, an endeavour was made to ascertain if the anthracnose had been caused by some biological strain of *Coll. Lindem.*

The plants from which the diseased pods originated stood under and quite near apple trees.

The fungus isolated from the diseased spots proved to belong to the genus *Gloeosporium.*

Conidia unicellar; round at both ends; straight, sometimes slightly curved. Conidia in acervuli of whitish-rose colour and in pseudo-pycnidia.

From the measurement of 500 conidia it was found that the the length (M $\pm$ m) was 9,67 μ $\pm$ 0,06 μ and the width 5,69 μ $\pm$ 0,03 μ.

In the following pages, the fungus is indicated as strain *K.*

Grown together with the strains *Z I, Z II, E* and *W* of *Coll. Lindem.* on the same plates in Petri dishes upon nutrient agars, strain *K* showed great differences in mode of growth with the strains of *Coll. Lindem.* (Pl. 7 and 8.)

Growing the fungus upon cherry-agar at different temperatures, it was found that strain *K* was characterised by an extremely rapid growth (table 7, p. 34). When grown upon bean-broth-agar it also grew much faster than the strains *Z I, Z II, E* and *W;* moreover, this strain *K* formed very much loose air mycelium.

In order to investigate if strain *K* was a biologic form of *Coll. Lindem.* inoculation experiments were made upon seedlings of *Phaseolus vulgaris* L. The results of this inoculation experiment are given in table 8, p. 35. In the second colum of this table is

indicated for which strains of *Colletotrichum Lindemuthianum* the bean-variety in question is susceptible.

The varieties Ruby Horticultural Bush, Minn. 98, Improved Yellow Eye, Minn. 1096, Red Indian, Minn. 1101, Navy, Minn. 1083, Brown Swedish, Minn. 132, Navy, Minn. 69 and Refugee Wax showed only a very slight trace of infection. Only a few spots of infection could be found; these spots were so minute that they could scarcely be found without the aid of the microscope. After penetrating one of two cells of the hospes, the fungus had died.

In the rest of the varieties, the plants showed very many small brown spots, which were 0,5—1 m.m. long and 0,1 m.m. wide. The spots occurred only upon the hypocotyle part of the stem and upon the petioles.

From the variety Round Pod Kidney Wax 24 plants were inoculated. In twenty three plants the fungus penetrated and died after having killed two or three cells. These plants showed only very small spots. One plant of the same variety became rather heavily infected and upon this plant, more than 250 spots could be counted of which some were large ($1\frac{1}{2} \times 0{,}5$ c.m.).

This moderately infected plant stood between the other much less infected plants of the same variety. This proves that no contamination of the inoculation material with *Colletotrichum Lindemuthianum* can have taken place. If this had been the case, more plants must have been infected. The fact that only one plant of the variety Round Pod Kidney Wax was infected, can be explained when we suppose that this one plant had a genotype different from the other plants as regards resistance for strain *K*.

It was impossible to reïsolate strain *K* from the minute spots upon the bean plants. Only upon the heavily infected plant did acervuli appear and that, after the diseased parts had been placed in a moist chamber. From the conidia, single-spore-cultures were made and it appeared that instead of the original type of the fungus two forms appeared, which showed more or less resemblance to the original strain *K*. These new forms are indicated further on as strain *K B 1*, and strain *K B 2*.

Sometimes in cultures of strain *K B 1* sectors occurred in which hardly any conidia were formed. In 15 cultures this phenomenon occurred 8 times.

Single-spore-cultures from the aberrant form allways gave the

Characteristics of the strains *K*, *K B 1* and *K B 2*.

	Strain *K*.	Strain *K B 1*.	Strain *K B 2*.
Colour upon cherry agar	white, grey to green, black	white	like strain *K*
Mode of fructification	acervuli, pseudodycnidia, pycnidia and spore-formation at the end of hyphae.	only at the end of hyphae	like strain *K*
Coulour of spore-mass	rose	white	like strain *K*
Odour	without odour	aromatic odour	like strain *K*
Rapidity of growth (see table 7, p. 34)	very great	less as strain *K*	like strain *K B 1*
Pathogenicity for apples and tomato's (see § 5)	great	less as strain *K*	like strain *K B 1*
Variability	strain *K* gives a constant new form, which is completely white and which absorbs the chromogen of cherry-agar (plate 15)	strain *K B 1* gives a new form which is identical with the new form produced by strain *K*.	

aberrant form, while single-spore-cultures from the original strain *K B 1*, often gave segregating colonies (Pl. 12).

Table 10 and 11 (p. 38) show that between strain *K* and the strains *K B 1* and *K B 2* there are important differences in the size of conidia.

From this fact rises the question whether the strains *K B 1* and *K B 2* are not contaminations of *Coll. Lindem.* This however cannot be the case, as the strains *K B 1* and *K B 2* differ from this fungus in many respects:

1. *K B 1* and *K B 2* never form setae in the acervuli and belong therefore to the genus *Gloeosporium.*

2. Both *K B 1* and *K B 2* can infect wounded apples and tomatoes while *Coll. Lindem.* is unable to do so (see § 5).

3. There are important differences in the size of conidia of the strains *K B 1* and *K B 2* and those of *Coll. Lindem.* (see table 12, p. 39).

Therefore the strains *K B 1* and *K B 2* are not contaminations of *Coll. Lindem.;* and later on it will be proved that they are closely related to strain *K*.

As a related *Gloeosp.* spec. *(Gl. fructigenum* from *Populus deltoïdes)* segregates in two sexual strains (EDGERTON 1914) the writer tried to ascertain if possibly the strains *K B 1* and *K B 2* were not sexual forms of strain *K*. No evidence of this however could be found.

All these facts lead to the conclusion that strain *K* possesses great variability.

This is also shown by the following observation: eighteen subcultures were made from a single-spore-culture of strain *K* upon cherry agar. Three of those subcultures were placed in a thermostat at each of the following temperatures: 5°, 10°, 15°, 20°, 25° and 30° C. The cultures placed at the 5 lower temperatures developed normally, but those placed at 30° became quite white, formed dense air mycelium with scarcely any conidia formation at the ends of hyphae. No acervuli or pycnidia were found. A peculiarity of this new form (strain *K 30*) was that it fully absorbed the chromogen of cherry agar. (Pl. 15.) The spore-size, the rapidity of growth at different temperatures and the infecting power for apples and tomatoes was on all fours like that of the original strain *K*.

Just the same new form occurred once as a sector in a colony of strain *K B 1*. This proves sufficiently that strain *K B 1* is closely related to strain *K*.

It seems to be a peculiarity of the genus *Gloeosporium* to form aberrant forms: thus EDGERTON (1915) describes new forms developing from *Gloeosporium fructigenum* from apple; SHEAR and WOOD (1913) from *Glomerella (Gloeosporium) cingulata,* DASTUR (1921) from *Glomerella cingulata (Gloeosp. piperatum);* BURGER (1921) from *Colletotrichum gloeosporiodes;* DICKSON (1923, 1925II) and BEWLEY and SHEARN (1924) from *Gloeosporium atramentarium;* CHAUDHURI (1924) from *(Gloeosporium biologicum;* WELLENSIEK (1926) from *Gloeosporium caulivorum.*

The fact that strain K does possess such a great rapidity of growth upon nutrient agars at different temperatures and that

this strain shows such a low pathogenicity to *Phas. vulgaris*, arose the question whether strain *K* is not a form of *Gloeosporium fructigenum* Berk. as EDGERTON (1915) describes having isolated this *Gloeosp.* species which evidently lived saprophytically upon anthracnose spots on bean pods, primarly caused by *Coll. Lindem.*

As the plants of *Phas. multifl.* from which the diseased pods originated stood under apple trees it was not improbable that strain *K* might be a form of *Gloeosporium fructigenum.*

To settle this point inoculations were made upon fruits of two apple varieties.

Wounded and unwounded fruits were respectivily inoculated by placing mycelium plus conidia upon the skin, and by introducing it in wounds made with the aid of a sterile knife.

Table 14 (p. 45) gives the results of these inoculation experiments. In both experiments, also were inoculations made with the four strains of *Coll. Lindem.* which proved itself to be unable to infect the wounded fruits, causing on both varieties heavy ionfect the wounded fruits, causing on both varieties heavy anthracnose symptoms. Upon the variety Herfst Bloemzoet the infection progressed faster than upon the variety Minister von Hammerstein, while upon the fruits of the latter variety less acervuli and pseudopycnidia were produced than upon the infected fruits of the former variety. These apple varieties also are differently susceptible to strain *K.*

Strain *K* could without difficulty be reïsolated from the infected fruits.

The way in which the infection took place was just like that described by KRÜGER (1913) for *Gloeosporium fructig.* f. *germanica* Kr.

To ascertain if strain *K* was identical with *Gl. fruct.* f. *germ.* another series of inoculations were made with strain *K* and with two forms of *Gl. fruct.* viz. *Gl. fruct.* f. *germanica* Kr. and *Gl. fruct.* f. *americana* Kr. both isolated by KRÜGER respectively from apple and banana. The results of this inoculation experiments are given in table 15, p. 48 and 49.

Besides inoculations with the original strain *K* and both forms of *Gl. fruct.* inoculations were made with a culture of strain *K* which had been reïsolated from from apple fruits infected by strain *K* (this culture is indicated in the following pages as strain

K A); inoculations were also made with the strains *K B 1* and *K B 2*.

Simultaniously with the abovementioned inoculations upon apples, inoculations were made upon tomato fruits, which were not fully ripe.

As the results of the inoculations upon apples and upon tomatoes were nearly the same, we shall discuss them together.

Table 16 (p. 50) gives the results of the inoculations upon tomatoes.

In table 15 and 16 the result of the inoculation is indicated by a fraction of which the denominator is the number inoculations performed and the numerator the number of inoculations which succeeded.

In table 16 the degree of infection is indicated as follows: s = heavily infected; m = moderately infected; z = slightly infected.

Table 14 and 15 show that after inoculation with strain *K* of the apple variety Minister von Hammerstein the first signs of infection appeared after a period of 5—6 days. After infection with strain *K A* the penetration of the fungus was visible after 1 day. Also for tomatoes strain *K A* proved to be more virulent than strain *K* (see table 16): strain *K* only affected wounded tomato fruits while strain *K A* could infect unwounded fruits as well.

Thus the passage of strain *K* through an apple has increased the pathogenicity of this strain for apples and tomatoes.

Strain *K B 1* proved to be less virulent for these fruits than strain *K* while strain *K B 2* had nearly lost its pathogenicity for apples and tomatoes.

The passage of strain *K* through *Phaseolus vulgaris*, which caused the formation of the strains *K B 1* and *K B 2* thus greatly decreased the pathogenicity for apples and tomatoes.

While the strains *K B 1* and *K B 2* differ greatly from strain *K* in physiological and morphological respects, the strain *K A* possesses the same spore-size (table 17, p. 52) and rapidity of growth (table 7, p. 34) as strain *K*.

It is a very remarkable fact that while the original strain *K* is only a wound parasite for tomatoes, the strain *K A* is a genuine parasite for tomatoes as it can infect both wounded and unwounded fruit (Pl. 10).

From tables 14, 15 and 16 can be seen that *Coll. Lindem.* is unable to infect apples and tomatoes. This proves sufficiently that strain *K* is not a form of *Coll. Lindem.*

Comparing the results of the inoculation with the strains *K* and *K A* with those of the inoculation with *Gl. fruct.* f. *germ.* and *Gl. fruct.* f. *amer.* it is evident that strain *K* is not identical with one of the latter fungi.

As it has been proved that the passage of strain *K* through apple and bean greatly influences the pathogenicity of this strain for apples and tomatoes, it was necessary to investigate whether a similar influence had taken place upon the pathogenicity for *Phaseolus vulgaris.*

The solution of this question was sought by inoculating a number of varieties of this bean species with the different strains used for the inoculation of apples and tomatoes.

Table 19 (p. 59) gives the results of these inoculation experiments. In table 19 the degree of infection is indicated as follows: g = fungus penetrated at a few places causing almost unvisible spots; z.l. = numerous spots 0,5—1,5 m.M. long and 0,1 m.M. wide; l = spots 1,5 m.M. long and 0,5 m.M. wide; (l) = fungus penetrated much cells of the petioles without causing sharply limited anthracnose spots, the tissue was discolored, but it rested turgescent; m = spots 2—3 c.M. long and 1 m.M. wide, no acervuli; st = heavy infection, large spots; plants partly died off, sometimes acervuli were produced; d = plants were killed.

From table 18 we can conclude:

1°. both series of inoculations with strain *K* gave similar results.

2°. the results of the inoculations with *Gl. fruct.* f. *germ.* and strain *K* was nearly the same.

2°. the result of the inoculations with *Gl. fruct.* f. *germ.* and strain *K A* was nearly the same.

4°. plants inoculated with strain *K B 1* were as slightly infected as by strain *K*.

5°. As to the result of inoculation with strain *K B 2*, it is interesting to notice that there was an important difference between the bean varieties sent by LEACH (the numbers 1—6) and those sent by BARRUS (the numbers 7—12). The former were only a little more affected by strain *K B 2* than by strain *K*,

while the latter were very much more infected by strain *K B 2* than by strain *K*.

It is interesting to notice that also *Gl. fruct.* f. *germ.* and f. *amer.* were able, though in a very light degree to affect *Phas. vulg.;* this is the more remarkable as in the literature on the subject no evidence of infection of *Phas. vulgaris* by other anthracnose causing fungi than *Coll. Lindem.* can be found.

As to the influence of growing strain *K* upon different hospes we can conclude: 1, that growing this strain upon apples and tomatoes has made strain *K* much more virulent for these fruits and that it has slightly increased the virulence for *Phas vulgaris;* 2. that growing strain *K* upon *Phas. vulgaris* has given forms with decreased pathogenicity for apple and tomato and with increased virulence for beans (e.g. strain *K B 2).*

Upon the varieties Wells' Red Kidney, White Imperial, Burpee White Wax, Extra Early Refugee, Round Pod Kidney Wax and White Marrow, the result of the inoculation with strain *K B 2* is such that the type of infection cannot be distinguished from that of infection by *Coll. Lindem.*

In relation to this, the question has to be considered whether no contamination of the inoculation material with *Coll. Lindem.* can have taken place.

This is impossible however for the following reasons:

1. among the beans of LEACH there are varieties which are very susceptible to *Coll. Lindem.* and rows of these plants stood amidst the rows of the beans of BARRUS. If contamination with *Coll. Lindem.* had taken place the beans of LEACH would also have got seriously diseased;

2. those varieties especially upon which the strains *K, K A* and *K B 1* cause a slight infection are severely attacked by strain *K B 2.* This proves that there must be a relation between the infecting fungus of the severely diseased plants and the strains *K, K A* and *K B 1;*

3. from the avervuli upon the diseased plants strain *K B 2* could easily be reïsolated.

Later on, we will discuss more in detail the consequences of this great variability in pathogenicity.

As already shown there are important differences between strain *K* and *Coll. Lindem.* The differences in respect to their pathogenicity for apples, tomatoes and beans are especially, so

great that these fungi cannot belong to the same species. Besides this, there are differences in spore-size and in rapidity of growth.

Strain *K* shows a resemblance to *Gloeosp. fruct.* f. *america* Kr. by its rapid growth, high optimum temperature and by its infecting power for tomatoes. There is however a difference in the way in which wounded apples are infected.

On the other hand, strain *K* resembles *Gl. fruct. f. germanica* Kr. especially in its mode of infecting wounded apples. *Gl. fruct.* f. *germ.* can infect unwounded apple- and tomato-fruits while strain *K* is unable to do so.

Though there is a slight difference between the size of conidia of strain *K* and the size of conidia given in the literature regarding *Gl. fruct.*, we consider strain *K* as a new form of *Gl. fruct.*

As a name for this form is proposed:

GLOEOSPORIUM FRUCTIGENUM FORMA HOLLANDICA NOV. FORMA.

Before discussing the variability of *Gl. fruct.* f. *holl.* it is pointed out that in the mycological literature the words mutants, etc. which are used in the genetics of the higher organisms, are very often misused. As a mutant must be considered a form that shows new heriditary characters which are not based upon the combination of the genotype(s) of the parent(s).

Of no fungus we possess at present sufficient knowledge of the genotype to be able to conclude whether under its progeny there are mutants or not; and especially when speaking of the asexually propagating fungi it is not justifiable to use the word mutant. As for this, new forms should be named: "constant variations".

The new forms proceeded from strain *K* after growing this strain upon different hospes must be considered as „constant variations".

Strain *K B 1* differs from the original strain in the colour of the colonies upon nutrient agars, in optimum temperature for growth, rapidity of growth, in forming larger conidia and in being less virulent for apples and tomatoes.

It is important to notice that strain *K 30* has proceeded from both strain *K* and strain *K B 1*. The strain *K 30* again, wich arose from strain *K B 1*, is as virulent for apples as strain *K* and shows the same rapidity of growth as this latter strain.

Strain *K B 2* has also arisen from strain *K* after the passage of the latter through *Phas. vulgaris.*

This passage through the bean causes the pathogenicity of strain *K* to be completely altered: the virulence for tomatoes is nearly lost, that for apples greatly reduced while the pathogenicity for beans is very much increased. This shows that from a form of *Gl. fruct.* there can arise a new form which scarcely can be distinguished from a form of *Coll. Lindem.* This proves that it is not impossible that so called biologic forms of *Coll. Lindem.* may be forms of *Gloeosp. fruct.*

In our case there are still differences e.g. the strain of *Gl. fruct.* is able to attack apples.

It is interesting to notice how the behaviour of both *Coll. Lindem.* and of *Gl. fruct.* is quite according the „Rule of VAVILOV" (1918). See p. 69.

Coll. Lindem. can only attack *Phaseolus vulgaris* and *Phas. multiflorus* and it is known that the fungus is highly specialized upon the varieties of these species: some varieties are attacked but other not at all. *Gloeosp. fruct.* on the contrary is more polyphagous as it is found upon a lot of genera and species e.g. *Crataegus, Pirus, Cydonia, Prunus, Rubus, Mangifera, Smilax, Vitis, Vanilla, Musa, Berberis, Solanum, Capsicum, Lathyrus* and *Phaseolus* spec.

In accordance with the „Rule of VAVILOV", when inoculating bean varieties with strain *K*, we do not find absolutely immune varieties. There are only differences in the degree of resistance of the varieties.

It may also be very difficult to distinguish a form of *Gl. fruct.* from one of *Coll. Lindem.*

Growing *Gl. fruct.* upon *Ph. vulgaris* gave forms which are strongly adapted to this genus but then have lost much of the original ability of infecting apples and tomatoes.

It is an important question whether this adaptation cannot go further so that forms arise which cannot be distinguished at all from *Coll. Lindem.*, the more so as growing *Gl. fruct.* upon *Phas. vulgaris* shows the tencency of increasing the size of conidia, thus eliminating one of the most important points of difference between *Gl. fruct.* and *Coll. Lindem.*

GECITEERDE LITERATUUR.

(LITERATURE CITED.)

ALWOOD, 1902. The Bitter Rot of Apples. Virginia Agr. Exp. Stat. Bull. 142.

BARRUS, M. F., 1911. Variation of varieties of beans in their susceptibility to anthracnose. Phytopathology 1, pp.: 190—195.

BARRUS, M. F., 1918. Varietal susceptibility of beans to strains of Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. et Magn.) B. & C. Phytopathology 8, pp. 589—614.

BARRUS, M. F., 1921. Bean anthracnose. Cornell University. Agr. Exp. Stat. Mem. 42, 209 p.

BARTRAM, H. E., 1916. Effect of natural low temperature on certain fungi and bacteria. Journ. Agr. Res. 5, pp. 651—657.

BEWLEY, W. F. and SHEARN, J., 1924. A root disease of tomato caused by Colletotrichum tabificum (Hallier proparte) Pethybridge. Journ. Appl. Biol. *XI* pp. 244—251.

BRIERLEY, W. B., 1925. The Relation of Plant Pathology to Genetie. in Report of Proc. Imp. Bot. Confer. London July 7—16. 1924, pp. 111—119.

BÖNING, K., 1926. Ueber die Empfänglichkeit von Phaseolus vulgaris für Colletotrichum Lindemuthianum im Lichte der Rassenbildung des Krankheitserregers. Forschungen auf dem Gebiet der Pflanzenkrankheiten und der Immunität im Pflanzenreich, 2 Jena Gustaf Fischer, pp. 1—18.

BURGER, O. F., 1921. Variations in Colletotrichum gloeosporioides. Journ. Agr. Res. *XX*, pp. 723—736.

BURKHOLDER, W. H., 1923. The gamma strain of Colletotrichum Lindemuthianum Phytopathology *13*, p. 316.

CUNNINGHAM, G. C., Bean Anthracnose. Dom. of Canada. Centr. Exp. Farm Pamphlet N°. 25.

CHANDHURI, H., 1924, A description of Colletotrichum biologicum, nov. spec. and observations on the occurrence of a saltation in the species. Ann. Bot. *XXXVIII*, pp. 734—744.

CLINTON, 1902. Apple rots in Illinois. Univ. of Ill. Agr. Exp. Stat. Urbana. Bull. 69.

DASTUR, J. F., 1920. Glomerella cingulata (Stoneman) Spauld. and its condial forms, Gloeosporium piperatum E. and E. and

Colletotrichum nigrum E. and Halst. on chillies and Carica papaya. Ann. Appl. Biol. VI, pp. 245—268.

BAUR, E., 1919. Einführung in die experimentelle Vererbungslehre. Verlag Borntraeger Berlin. 4e Aufl.

DICKSON, B. T., 1922. Diseases of potato. 14th Ann. Rept. Quebec Soc. Prot. Plants. pp. 67—105 (Ref. in: Rev. Appl. Myc. II, *1923*, p. 26.)

DICKSON, B. T., 1923. Saltation in a organism causing „black dot" disease of potato in Canada. Trans Roy. Soc. Canada, 3rd Ser., *XXVII*, pp. 123—127.

DICKSON, B. T., 1925I. Colletotrichum versus Vermicularia. Mycologia *XVII*, pp. 213—217.

DICKSON, B. T., 1925II. Further studies on saltation in the organism causing „black dot" disease of potato. Trans. Roy. Soc. Canada. Sect. V, 3rd. Ser. *XIX*, pp. 275—277.

EDGERTON, C. W., 1908. The physiology and development of some anthracnoses. Bot. Gaz. *45*, pp. 367—408.

EDGERTON, C. W., 1914. Plus and minus strains in the genus Glomerella. Am. Journ. Bot., *I*, pp. 244—254.

EDGERTON, C. W., 1915. Effect of temperature on Glomerella. Phytopathology *5*, pp. 247—259.

EDGERTON, C. W. and MORELAND, C. C., 1916. Experiments on varietal resistance to the bean and cotton anthracnose diseases. Louisiana Exp. Stat. Bull., *155*, pp. 1—24.

FISCHER, W., 1919. Die Brennfleckenkrankheit der Bohnen. Fühling's Landw. Ztg. *68*, pp. 241—259.

FRANK, B., 1883. Über einige neue und weniger bekannte Pflanzenkrankheiten;
1. Fleckenkrankheit der Bohnen, veranlasst durch Gloeosporium Lindemuthianum.
Landw. Jahrb. *12*, pp. 511-523.

HALSTED, B. D., 1896. Experiments with beans. In Rept. of the Botanist. New-Yersey Agr. Exp. Stat. Ann. Rept. *16* (1895), pp. 283—292.

HALSTED, B. D., 1897. Rept. of the Botanist. New-Yersey Agr. Exp. Stat. Ann. Rept. *17* (1896), pp. 289—429.

HEMMI, T., 1920. Beiträge zur Kenntniss der Morphologie und Physiologie der japanischen Gloeosporien. Journ. Coll. Agr. Hokkaido. Imp. Univ. Sapporo, Japan. **9**, p. 159.

JOHANNSEN, W., 1913. Elemente der exakten Erblichkeitslehre. Verlag G. Fischer, Jena. 2te Ausgabe.

KRÜGER, F., 1913. Beiträge zur Kenntnis einiger Gloeosporien. K. Biol. Anst. Land- u. Firstw. Arb. *9*, pp. 233—323.

LAURITZEN, J. I., 1919. The relation of temperature and humidity to infection by certain fungi. Phytopathology *9*, pp. 7—35.

LEACH, J. G., 1923. The parasitism of Colletotrichum lindemuthianum. Univ. of Minnesota. Agr. Exp. Stat. Techn. Bull. *14*.

MAC ROSTIE, G. P., 1919. Inheritance of anthracnose resistance as indicated by a cross between a resistent and a susceptible parent. Phytopathology *9*, pp. 141—149.

MAC ROSTIE, G. P., 1921I. The immunization of plants. Sci. Agric. (Canada) *1*, pp. 122—124.

MAC ROSTIE, G. P., 1921II. Inheritance of disease resistance in common bean. Journ. Am. Soc. Agronomy *13*, pp. 15—32.

MUNCIE, J. H., 1917. Experiments on the control of bean anthracnose and bean blight. Michigan Agr. Exp. Stat. Techn. Bull. *38*, pp. 1—50.

PFEIFFER, C., 1910. Nochmals: Bohnenkrankheit (Gloeosporium Lindemuthianum). Deut. Landw. Presse *37*, p. 700.

RABENHORST, 1903. Kryptogamenflora. 2. Aufl., Bd. 1, Abt. 7. Bearbeitet von A. Allescher.

REDDICK, R., 1922. A hybrid bean resistent to anthracnose and to mosiac. 13th Ann. Meeting Am. Phytop. Soc. Toronto. Canada. Dec. 28—31, 1921. Phytopathology 12, p. 417 (Abstract).

SACCORDO, P. A., 1894. Sylloge fungorum. Batavia.

SCHAFFNIT, E., 1920. Untersuchungen über die Brennfleckenkrankheit der Bohnen. Deut. Landw. Gesellsch. Mitt. *35*, pp. 299—302.

SCHAFFNIT, E., 1922. Neuere Untersuchungen über die Brennfleckenkrankheit der Bohnen. Beitr. z. Pflanzenzucht, *6*, pp. 25-35.

SCHAFFNIT, E., und BÖNING, K., 1925. Die Brennfleckenkrankheit der Bohnen. Forschungen auf dem Gebiet der Pflanzenkrankheiten und der Immunität im Pflanzenreich *I*. Jena. C. Fischer, pp. 1—184.

VON SCHRENCK, H. and SPAULDING, P., 1903. The bitter-rot of apples. Bull. *44*. Bur. Plant Indust. U. S. Dept. Agr. 54 pp.

SCOTT, W. M., 1906. The control of the apple bitter-rot. Bull. *93*. Bur. Plant Indust. U. S. Dept. Agr. 36 pp.

SHEAR, C. L. and WOOD, A. K., 1907 Ascogenous forms of Gloeosporium and Colletotrichum. Bot. Gaz., *43*, pp. 259-266.

SHEAR, C. L. and WOOD, A. K., 1913. Studies of fungous parasites belonging to the genus Glomerella. Bull. *252*. Bur. Plant Indust. U. S. Dept. Agr. 110 pp.

STONEMAN, B., 1898. A comparative study of the development of some anthracnoses.
Bot. Gaz. *26*, pp. 69-120.

VAVILOV, N., 1918. Immunity of plants to infectious diseases. Mockba. (Russisch, English Resumé).

VERKLARING DER PLATEN.

(EXPLANATION OF THE PLATES.)

PLAAT 1.

Planten van de variëteit White Kidney gefotografeerd 14 dagen na infectie met de stammen *Z I* (= Z 4 op de foto) en *E* van *Coll. Lindem.*

PLATE 1.

Plants of the variety White Kidney photographed 14 days after inoculation with strain *Z I* (= Z 4 on the photo) and strain *E* of *Coll. Lind*

Foto J. V. D. PEPPEL, BZN.

Plaat I.

PLAAT 2.

Planten van de variëteit Michigan Robust Pea Bean gefotografeerd 14 dagen na infectie met de stammen *Z I* (= Z 4 op de foto), *Z II*, *E* en *W* van *Coll. Lindem.* Duidelijk blijkt het groote verschil in aantastingswijze door de verschillende stammen.

PLATE 2.

Plants of the variety Michigan Robust Pea Bean photographed 14 days after inoculation with the strains *Z II*, *W*, *Z I* (= Z 4 on the photo) and *E* of *Coll. Lind.* Note the differences in mode of infection.

Foto J. V. D. PEPPEL, BZN.

Plaat II.

PLAAT 3.

Fig. 1. Plant van de variëteit Michigan Robust Pea Bean aangetast door stam *Z I* van *Coll. Lindem.* De nerven, de bladstelen en het epicotyle stengeldeel zijn donkerbruin verkleurd.

Fig. 2. Planten van de variëteit Yellow Eye 17-541-12-1-6 geïnfecteerd met de stammen *Z I* (= Z 4 op de foto) en *Z II* van *Coll. Lindem.* Bij infectie met stam *Z I* is alleen het epicotyle stengeldeel en de stengelbasis aangetast, terwijl door stam *Z II* de geheele stengel is aangetast. Zoowel stam *Z I* als stam *Z II* deed de plant afsterven.

PLATE 3.

Fig. 1. Plant of the variety Michigan Robust Pea Bean photographed 14 days after being inoculated with strain *Z I* of *Coll. Lind.* Note the discoloration of the veins, petioles and of the epicotyle.

Fig. 2. Plants of the variety Yellow Eye 17-541-12-16 photographed 14 days after inoculation with the strains *Z I* (= Z 4 on the photo) and *Z II* of *Coll. Lind.* Both strains kill the plants, but strain *Z I* only affects the epicotyle and the base of the stem while strain *Z I* affects the whole stem.

Fig. 1

Fig. 2

Foto's J. V. D. PEPPEL, BZN.

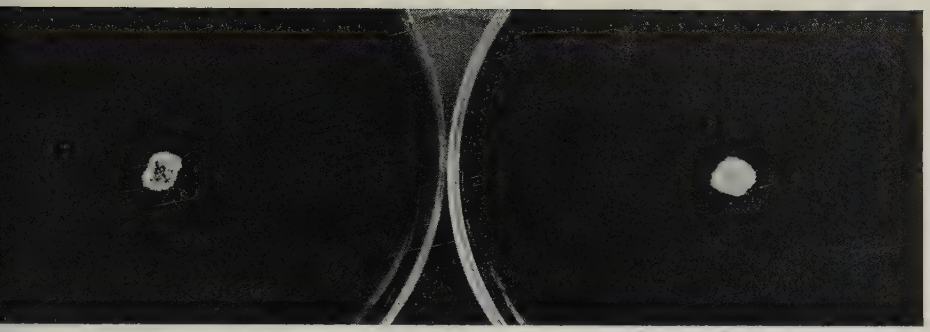
PLAAT 4 EN 5.

Groei van de stammen *E* en *Z II* van *Coll. Lindem.* bij verschillende temperaturen op kersen-agar.
Bij alle onderzochte temperaturen vertoont stam *Z II* een meer compacte groei dan stam *E*. Duidelijk blijkt, dat het optimum voor groei van stam *Z II* bij 20° C. ligt en dat van stam *E* bij 25° C.
De afgebeelde kolonies waren 10 dagen oud.

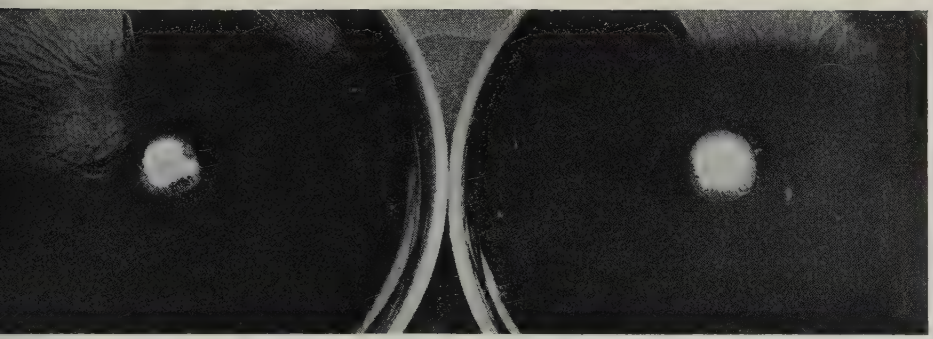
PLATE 4 AND 5.

Strain *E* and *Z II* of *Coll. Lind.* cultivated at different temperatures upon cherry-agar. At all temperatures strain *Z II* shows a more dense mycelium growth than strain *E*. The optimum-temperature for growth of strain *Z I* lies near 20° C., while that of strain E is about 25° C.
The colonies were 10 days old when photographed.

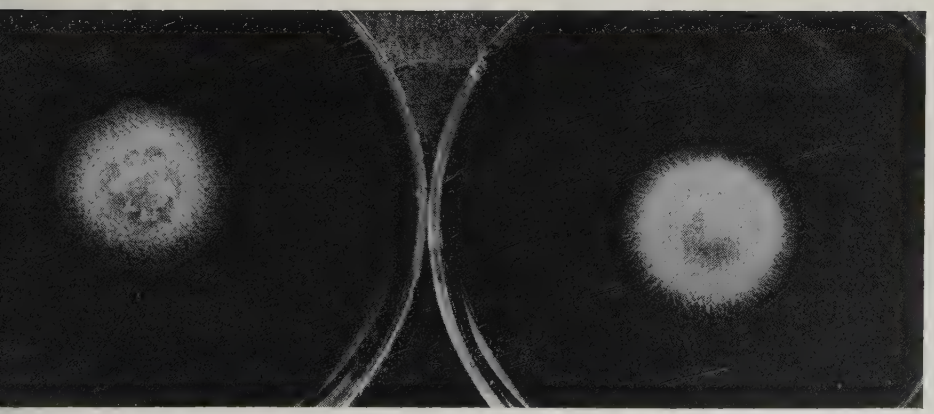
Stam *E.* Stam *Z II*



5° C.



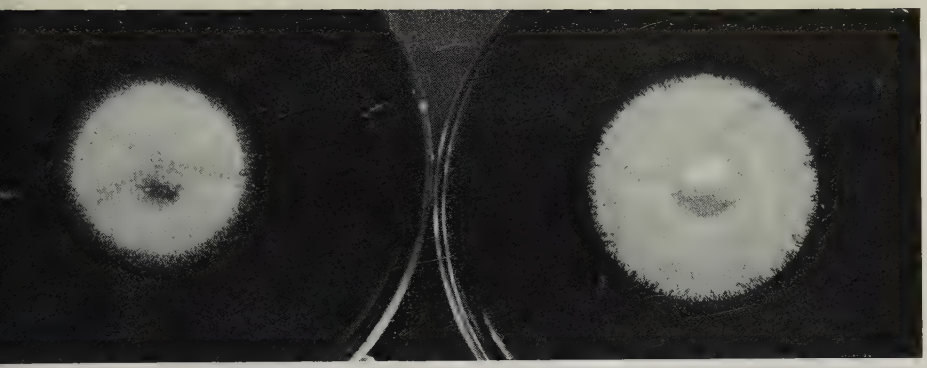
10° C.



15° C.

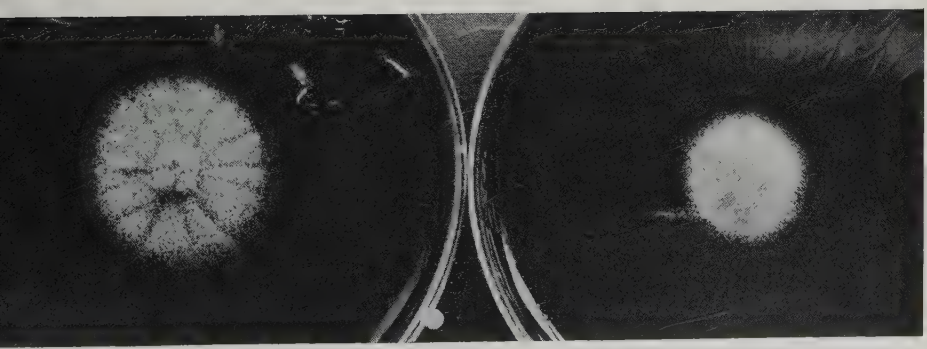
Foto's H. R. A. MULLER.

Stam *E.* Stam *ZII.*



20° C.

25° C.



30° C.

Foto's H. R. A. MULLER.

PLAAT 6.

Groeiverschillen tusschen de stammen *Z I* en *Z II* van *Coll. Lindem.* bij 30° C. en 28° C.

Bovenste rij: stam *Z I*. Bij 30° C. is stam *Z I* afgestorven; de kleur van de bij 28° C. gegroeide kolonie is wit.

Onderste rij: stam *Z II*. Bij 30° C. heeft nog geringe groeiplaats; bij 28° C. gekweekt, wordt de kleur van de kolonie donker-grauw.

De afgebeelde kolonies waren bij de opname 14 dagen oud.

PLATE 6.

Differences in growth between the strains *Z I* and *Z II* at 30° C. and 28° C. on cherry-agar.

First row: strain *Z I*. At 30° C. strain *Z I* died off; the colour of the colony grown at 28° C. is white.

Second row: strain *Z II*. At 30° C. a slight growth occurred; the colour of the centre of the colony grown at 28° C. turns blackish.

The colonies were 10 days old when photographed.

30° C. 28° C.

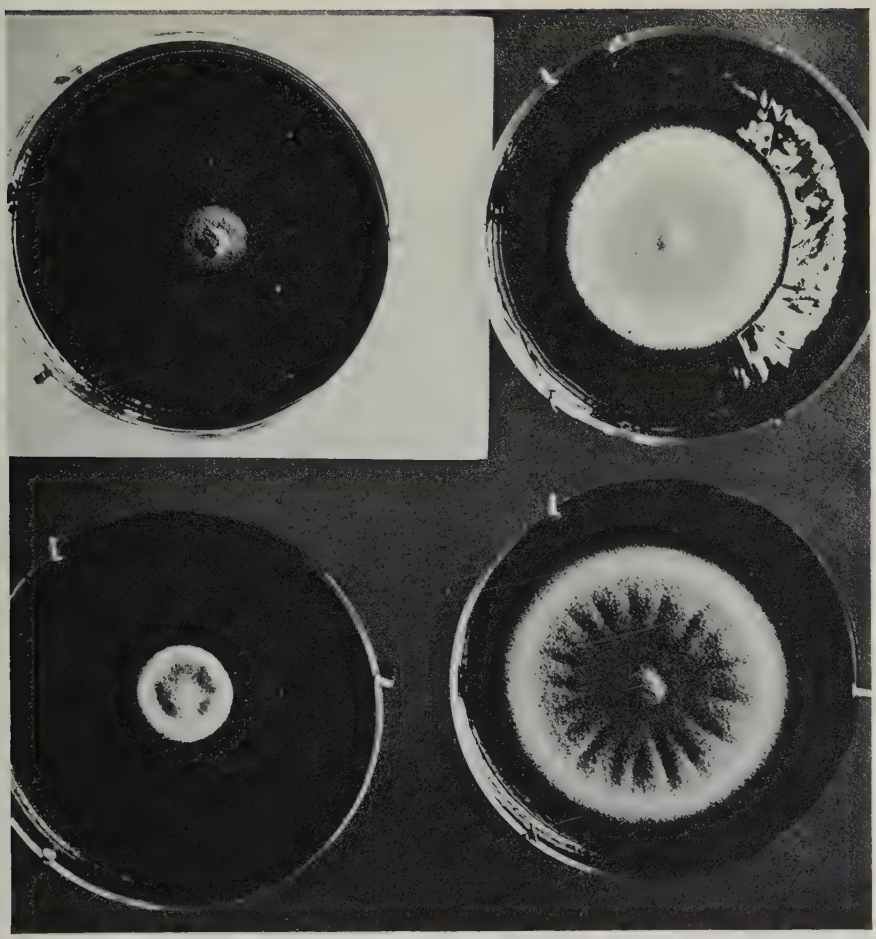


Foto H. R. A. MULLER.

PLAAT 7 EN 8.

Kolonies van de stammen *Z I, Z II, E* en *W* van *Coll. Lindem.* en van stam *K (Gloeosporium fructigenum f. hollandica)* op kersen-, respectievelijk boonen-agar, gekweekt bij 15° C. Ouderdom der kolonies bij de opname der foto 9 dagen.
Duidelijk blijkt de groote overeenkomst in de groeiwijze van de stammen *Z I* en *Z II* onderling en van de stammen *E* en *W* onderling.

PLATE 7 AND 8.

Colonies of the strains *Z I, Z II, E* and *W* of *Coll. Lind.* and of strain *K* (*Gloeosporium fructigenum f. hollandica*) upon cherry- and bean-agar, respectively, grown at 15° C.
It is evident that the colonies of the strains *Z I* and *Z II* are alike and those of the strains *E* and *W* also. The colonies were 9 days old when photographed.

Stam *W.*

tam
E.

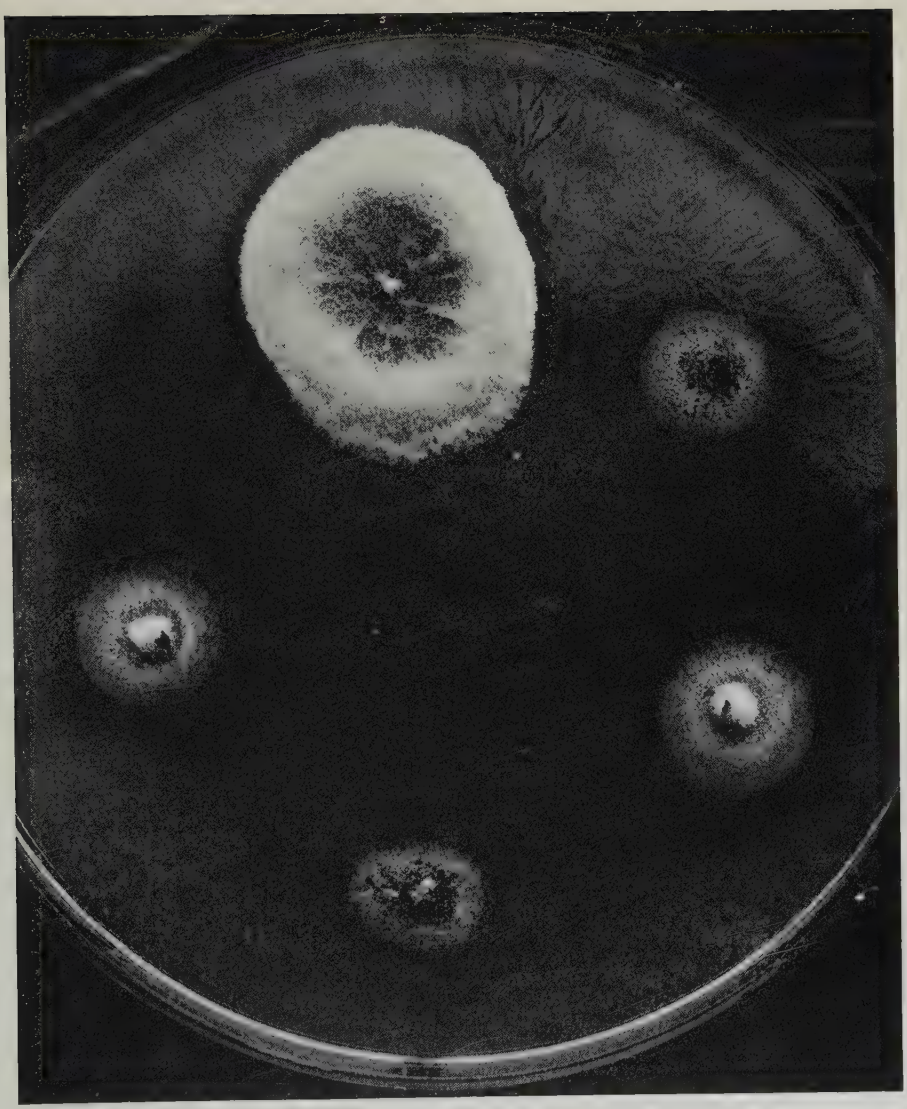
Stam
K.

tam
ZII.

Stam *ZI.*

Foto H. R. A. MULLER.

Stam *K*



Stam *E*

Stam *ZII*

Stam *ZI*

Stam *W*

Foto H. R. A. MULLER.

PLAAT 9.

Fig. 1. De eenige plant van de variëteit Round Pod Kidney Wax, die door stam *K* vrij sterk werd aangetast. Uit deze plant werden de stammen *K B 1* en *K B 2* geïsoleerd.

Fig. 2. Infectieproef op vruchten van de appel-variëteit Herfstbloemzoet. Gefotografeerd 5 dagen na de infectie.
a. Geïnfecteerd met stam *K (Gloeosporium fructigenum f. hollandica).*
b. Geïnfecteerd met stam *Z I* van *Coll. Lindem.*

PLATE 9.

Fig. 1. Shows the only plant that has been attacked by strain *K.* Out of this plant the strains *K B 1* and *K B 2* were isolated.

Fig. 2. Inoculation experiment upon fruits of the apple-variety Herfstbloemzoet. Photographed 5 days after inoculation.
a. Inoculated with strain *K* (*Gloeosp. fruct. f. holl.*).
b. Inoculated with strain *Z I* of *Coll. Lind.*

Fig. 1.

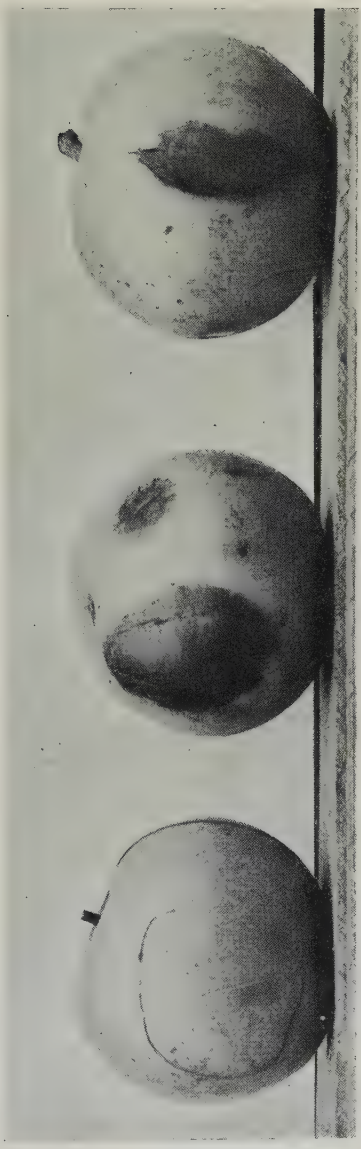


Fig. 2.

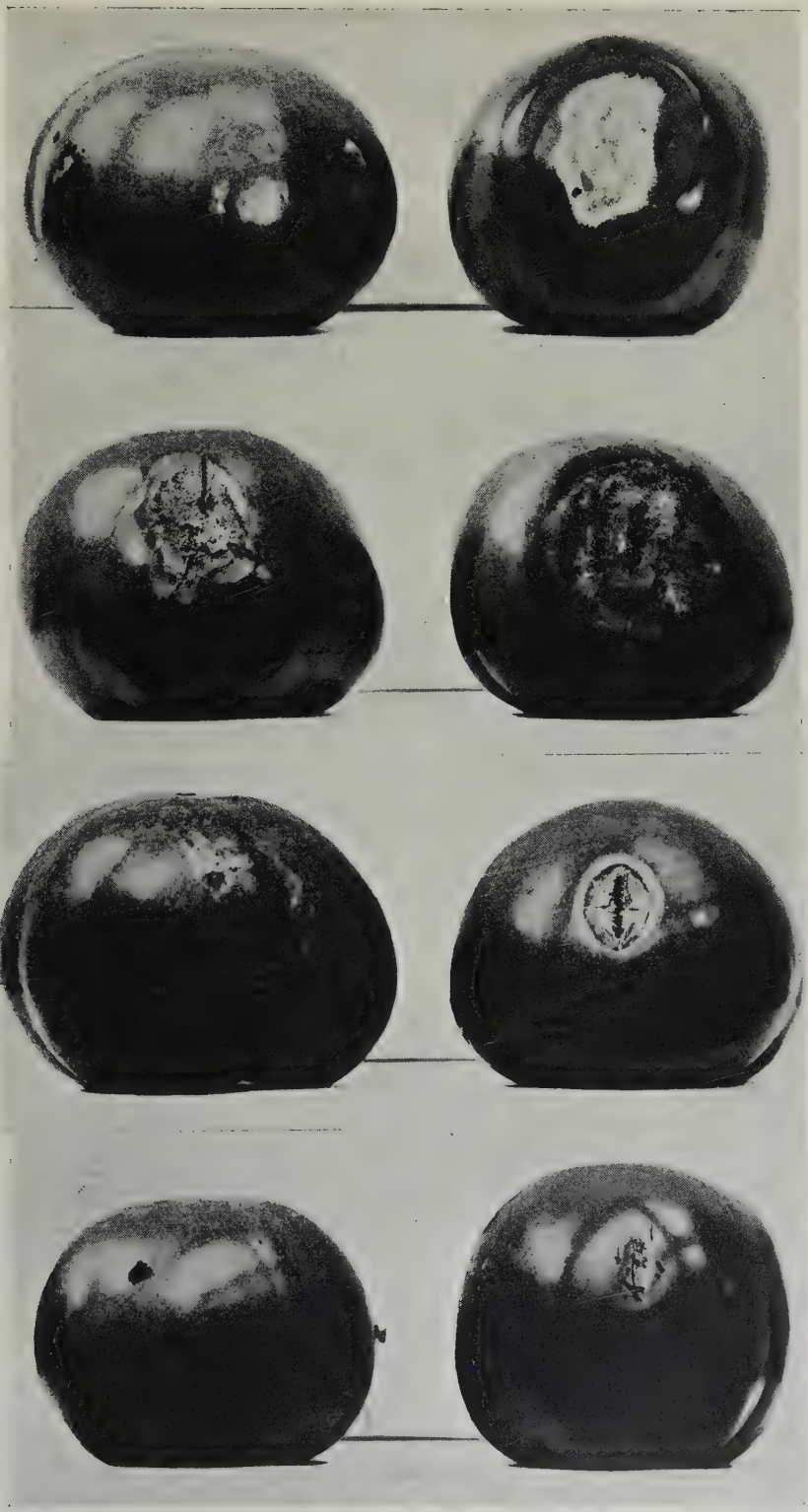
Foto's H. R. A. MULLER.

PLAAT 10 EN PLAAT 11, FIG. 1.

Tomaten, geïnfecteerd met de stammen *K*, *K A*, *K B 1* en *K B 2* van *Gl. fruct. f. holl.* en met *Gl. fruct. f. germ.* Kr. en *Gl. fruct. f. amer.* Kr.
Links: infecties op niet-verwonde vruchten.
Rechts: infecties op verwonde vruchten.
Sterke aantasting van de verwonde vruchten door de stammen *K* en *K A*.
Zwakke aantasting van de verwonde vruchten door stam *K*.
Zwakke aantasting van de verwonde vruchten door stam *K B 1* en door *Gl. fruct. f. amer.* Kr.
Geen aantasting door stam *K B 2* en door *Gl. fruct. f. germ.* Kr.
Men lette op de verkleuring van den schil rondom de aangetaste gedeelten van de met de stammen *K* en *K A* geïnfecteerde vruchten. Duidelijk zichtbaar zijn de barsten in het aangetaste gedeelte van de niet-verwonde vrucht geïnfecteerd met stam *K A*.

PLATE 10 AND PLATE II, FIG. 1.

Tomato-fruits inoculated with the strains *K*, *K A*, *K B 1* and *K B 2* of *Gl. fruct. f. holl.* and with *Gloeosporium fruct. f. germanica* Kr. and *Gl. fruct. f. america* Kr.
Left: Inoculations upon wounded fruits.
Right: Inoculations upon sound fruits.
The strains *K* and *K A* caused a severe infection upon wounded fruits; strain *K A* severely infected sound fruits; strain *K B 1* and *Gl. fruct. f. amer.* Kr. gave a slight infection upon wounded fruits, while strain *K B 2* and *Gl. fruct. f. germ.* Kr. did not affect the fruits, at all. Note the discoloration of the skin around the place of infection by the strains *K* and *K A*.



K.

K A.

K B 1.

K B 2.

Foto's H. R. A. MULLER.

PLAAT 11.

Fig. 2. Aantasting van de boonenvariëteit White Kidney door stam *K (Gl. fruct. f. holl.)*, gefotografeerd 15 dagen na de infectie. Vergrooting 15 ×.

PLATE 11.

Fig. 2. Infection of the variety White Kidney by strain *K* (*Gl. fruct. f. holl.*) photographed 14 days after inoculation. Enlarged 15 ×.

Gl. fr. f. a.

Gl. fr. f. g.

Fig. 1.

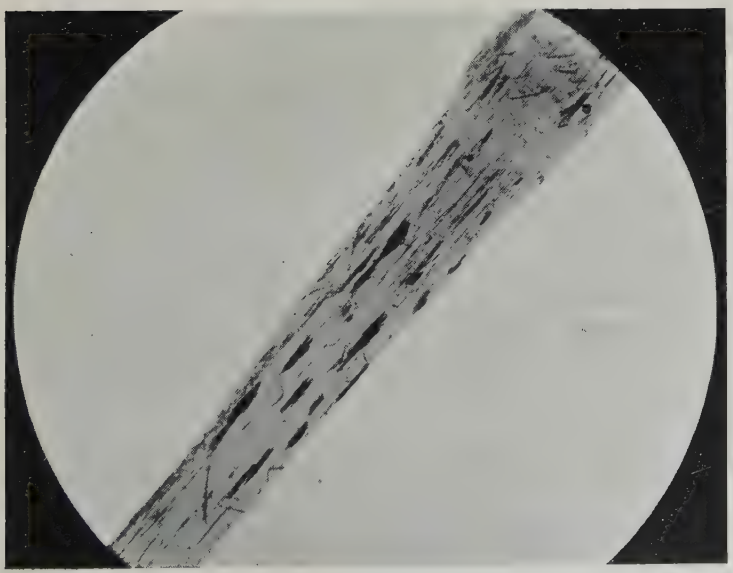


Fig. 2.

Foto's H. R. A. MULLER.

PLAAT 12.

Fig. 1. Eén-spore kolonies gemaakt met sporen uit een afwijkende sector van een kolonie van stam *K B 1 (Gl. fruct. f. holl.)*. Men lette op de volkomen gelijkvormigheid van de kolonies.

Fig. 2. Eén-spore kolonies van de cultuur van stam *K B 1*, waarin de bovengenoemde afwijking ontstond. Er ontstonden 2 typen kolonies: het oorspronkelijke van *K B 1* en dat van den nieuwen vorm. Duidelijk blijkt de neiging tot het vormen van afwijkende sectoren in de kolonies.

PLATE 12.

Fig. 1. Single-spore cultures made of conidia from an aberrant sector occurring in a colony of strain *K B 1* (*Gl. fruct f. holl.*). Note that the colonies are all alike.

Fig. 2. Single-spore cultures made of conidia from the culture of strain *K B 1*, from which the new form arose. There were two types of colonies: that of the original form *K B 1* and that of the aberrant form. Note the tendency for sector-formation.

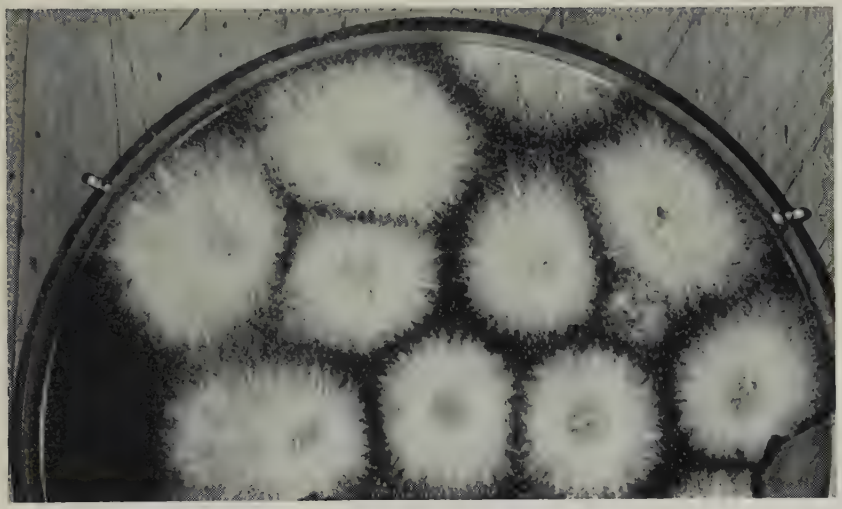


Fig. 1.

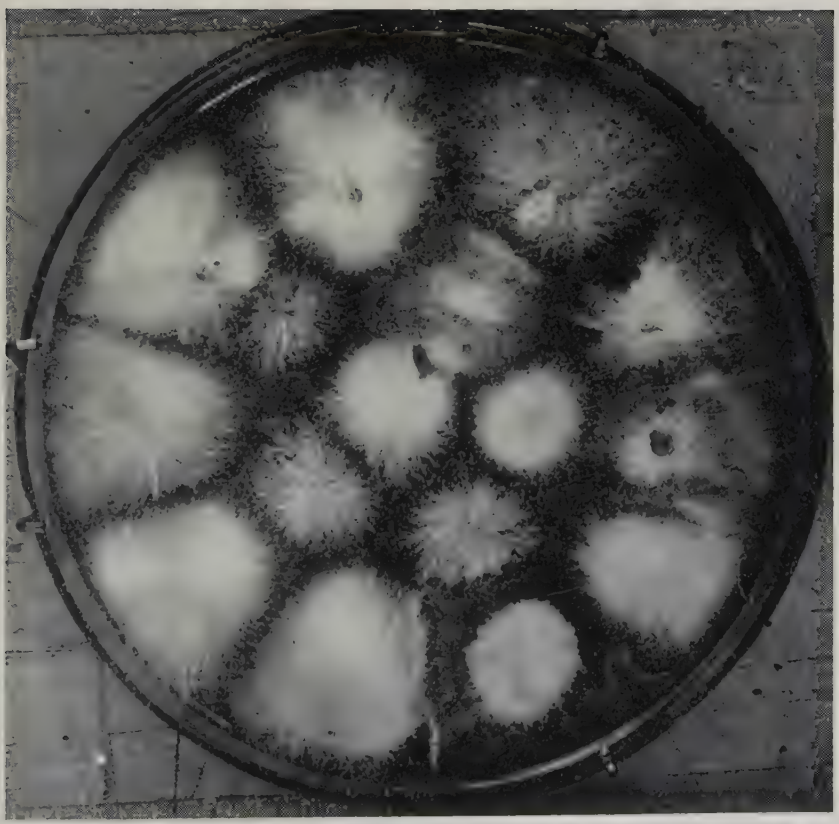


Fig. 2.

Foto's H. R. A. MULLER.

PLAAT 13.

Stengels en bladstelen van de variëteit Round Pod Kidney Wax, gefotografeerd 14 dagen na infectie met de stammen *K* *K A*, *K B 1* en *K B 2* van *Gl. fruct. f. holl.* De stammen *K* en *K A* vercorzaakten een nauwelijks waarneembare aantasting; stam *K B 1* gaf een iets sterkere aantasting, terwijl stam *K B 2* de planten zeer sterk aantastte.

PLATE 13.

Stems and petioles of plants of the variety Round Pod Kidney Wax photographed 14 days after being inoculated with the *K*, *K A*, *K B 1*, and *K B 2* of *Gl. fruct. f. holl.*

The strains *K* and *K A* gave a very slight infection, the plants inoculated with strain *K B 1* were a little more affected, while the plants inoculated with strain *K B 2* were severely diseased.

Foto J. V. D. PEPPEL BZN.

PLAAT 14.

Bladeren van de op plaat 13 afgebeelde planten. Alleen stam *K B 2* tastte de bladeren vrij sterk aan.

PLATE 14.

Leaves belonging to the plants of plate 13. Only strain *K B 2* caused a rather severe infection.

K A.

K.

K B 2.

K B 1.

Foto J. V. D. PEPPEL BZN.

PLAAT 15.

Fig. 1. Voorzijde van één maand oude cultures op kersen-agar van respectievelijk: stam *K*; stam *K 30*, ontstaan uit stam *K*; stam *K B 1* en stam *K 30*, ontstaan uit stam *K B 1*.

Fig. 2. Achterzijde van de in fig. 1 afgebeelde cultures. Duidelijk zichtbaar is, dat de beide stammen *K 30* het vermogen bezitten om de kleur van kersen-agar te doen verdwijnen.

PLATE 15.

Fig. 1. Frontview of one month old cultures on cherry-agar of the strain *K*; strain *K 30*, arose from strain *K*; strain *K 30*, arose from strain *K B 1*, respectively.

Fig. 2. Back view of the same cultures. It is evident that both strains *K 30* are able to absorb the colour of the cherry-agar.

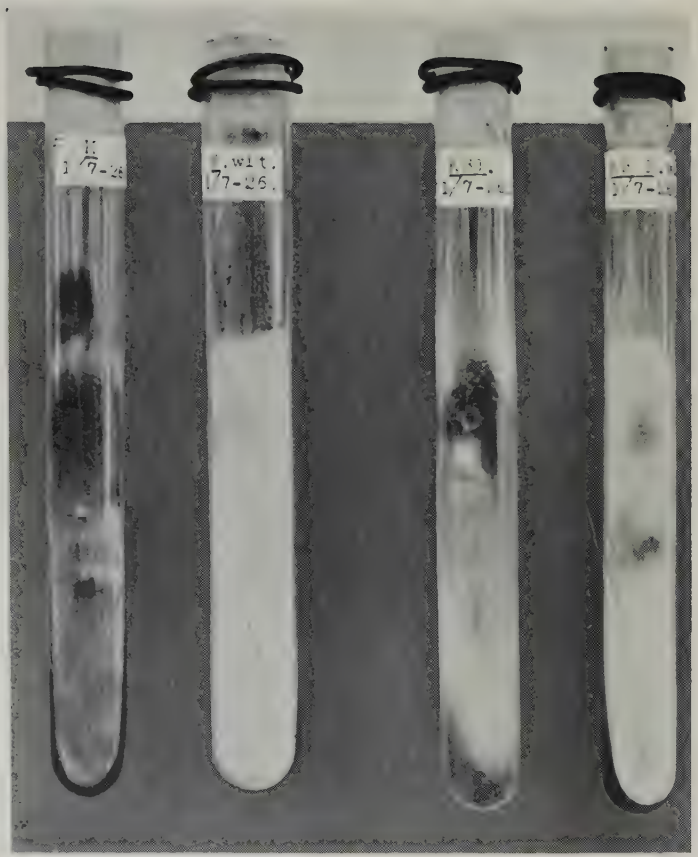


Fig. 1.

Fig. 2.

Foto J. BOEKHORST.

Plaat XV.

PLAAT 16.

Fig. 1. Drie maanden oude cultures van *Coll. Lindem.* stam *Z I* op boonenagar. In de agar peritheciumachtige lichamen.

a. Voorzijde van een cultuur.

b. Achterzijde van een cultuur. N.B. de ophooping van de perithecium-achtige lichamen langs een splinter in de voedingsbodem.

Fig. 2. *a.* Dwarsdoorsnede door een perithecium-achtig lichaam van *Coll. Lindem.* (stam *Z I*) gevormd in boonenagar. Coupe 4 μ dik, gekleurd in Haidenhain haematoxyline. Vergr. 100 $\times$.

b. Schematische teekening van een dwarsdoorsnede door een perithecium-achtig lichaam van *Coll. Lindem.* Vergr. 100 $\times$.

PLATE 16.

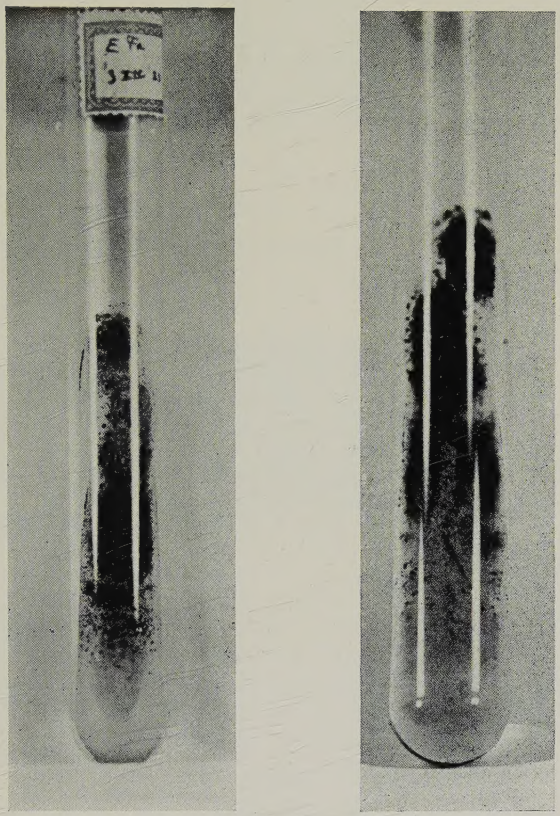
Fig. 1. Three month' old cultures of *Coll. Lind.* (strain *Z I*) on bean-broth-agar. In the medium perithecium-like bodies.

a. Frontview of a culture.

b. Backview of a culture. Note that the perithericumlike bodies are heaped up along a splitter of wood in the agar.

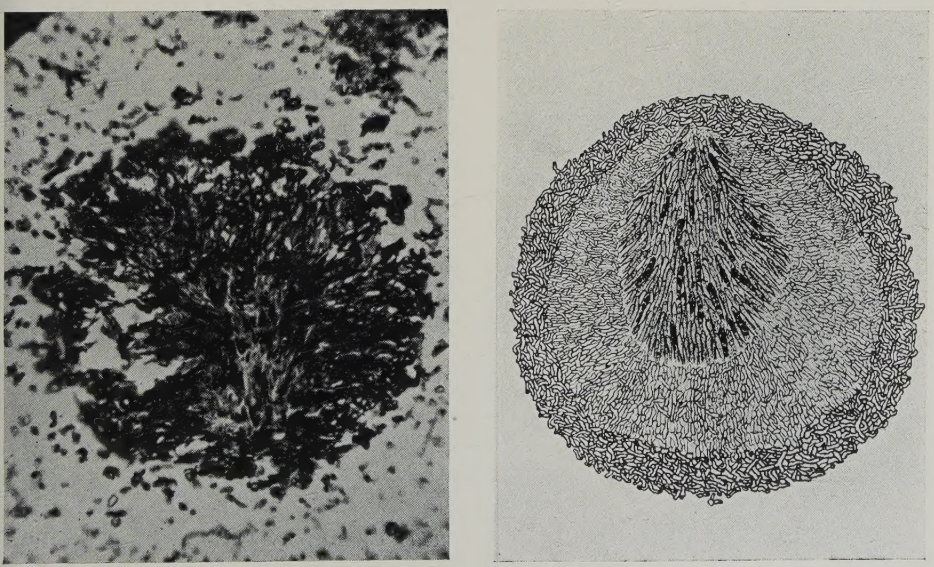
Fig. 2. Cross-section through a perithecium-like body of *Coll. Lind.* (strain *Z I*), 4 μ thick, stained in Haidenhain haematoxylin. $\times$ 100.

b. Drawing of a cross-section through a perithecium-like body of *Coll. Lind.* $\times$ 100.



a. *b.*

Fig. 1.



a. *b.*

Fig. 2.

Foto's H. R. A. MULLER.